

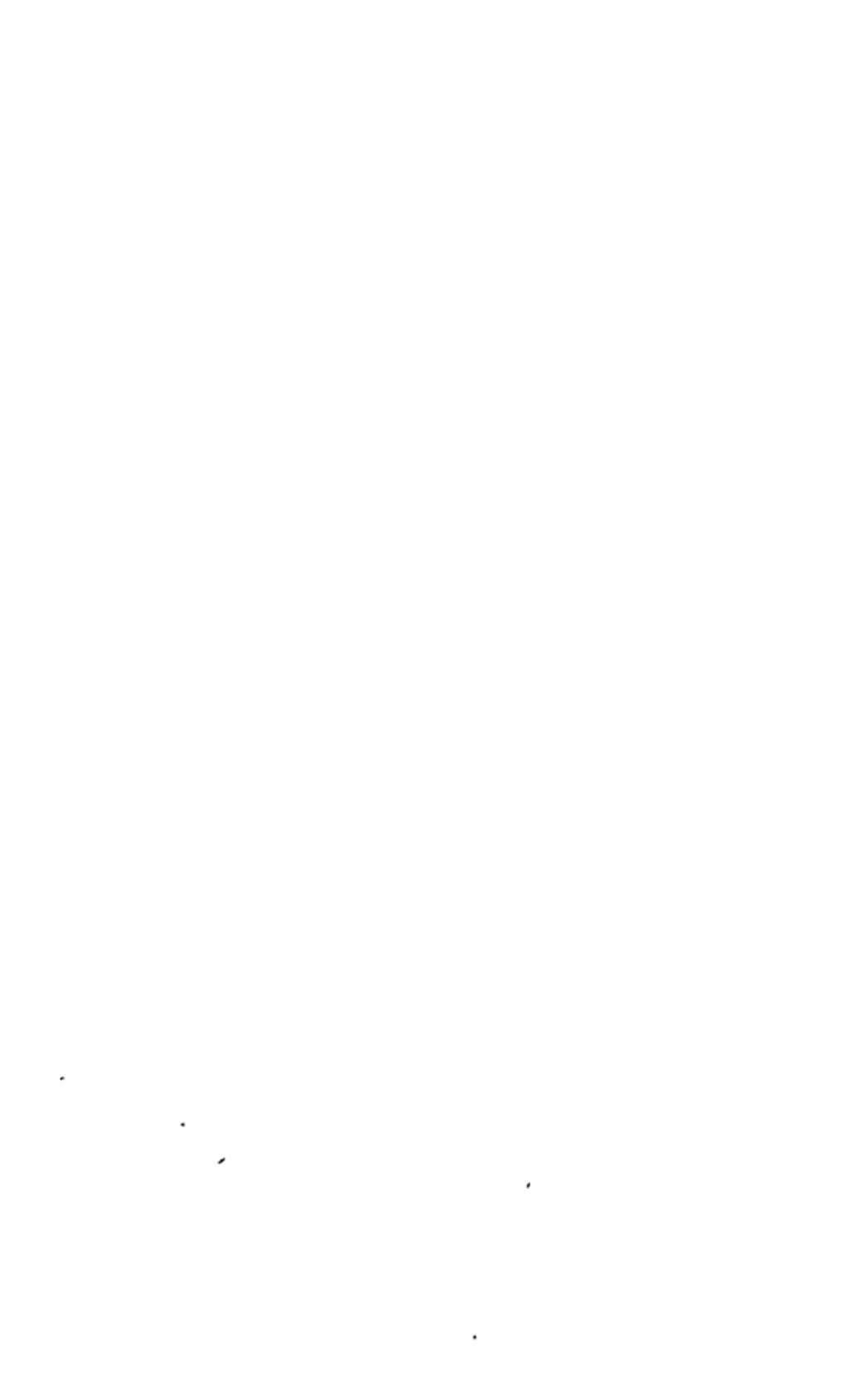
MEDIZIN UND CHEMIE

Abhandlungen

aus den Medizinisch-chemischen Forschungsstätten der
I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft

»Bayer-Meister-Lucius«
Leverkusen a. Rh.

1933



Unter dem Titel „MEDIZIN UND CHEMIE“ veröffentlichen wir zum erstenmal eine Reihe zusammenfassender Arbeiten aus unseren Medizinisch-chemischen Forschungsstätten. Damit erfüllen wir zugleich einen uns oft geäußerten Wunsch, weiteren medizinischen Kreisen eine nähere Kenntnis von der in unseren Laboratorien geleisteten Arbeit zu vermitteln.

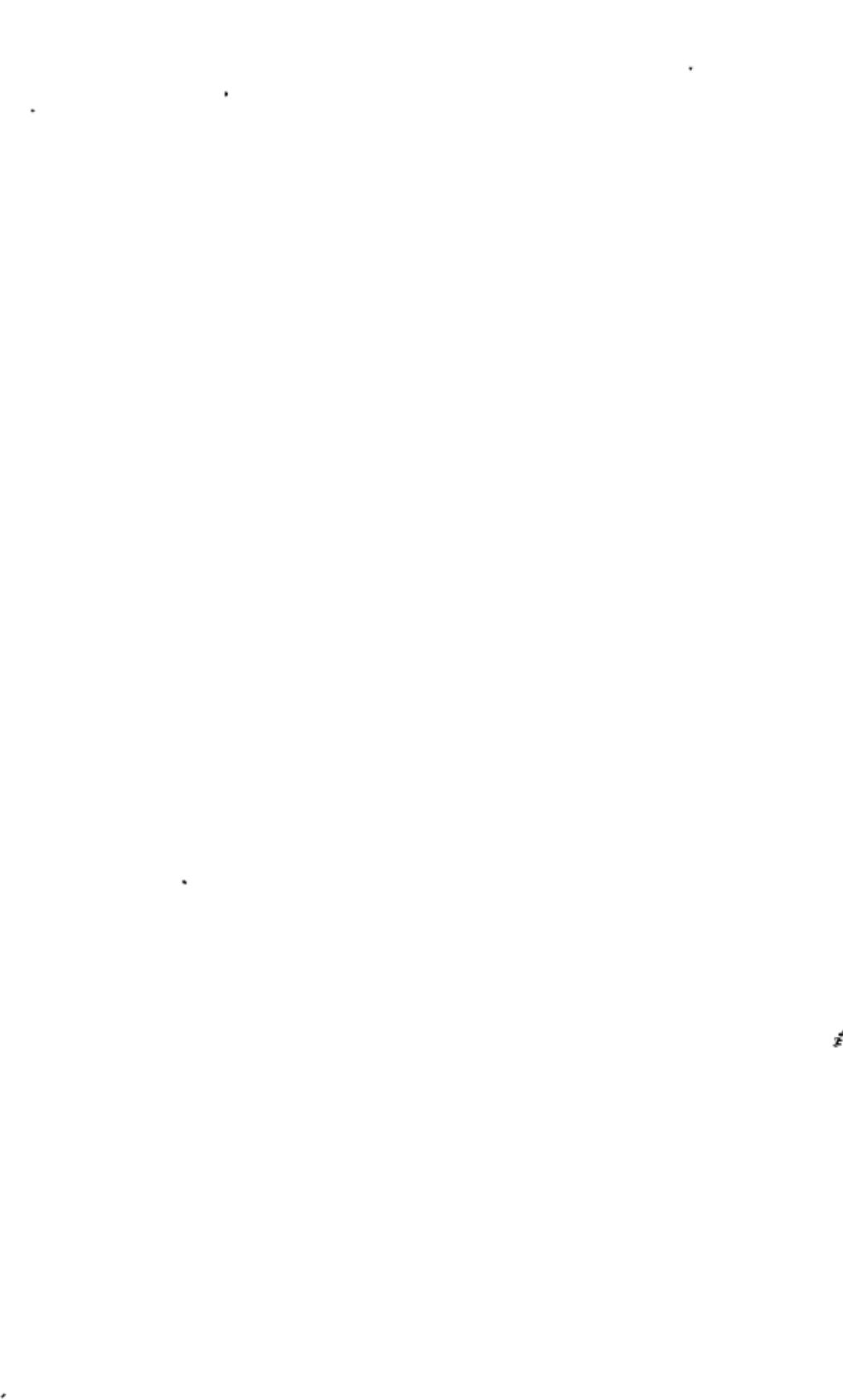
Der vorliegende Band kann in seiner räumlichen Begrenzung nur einen Ausschnitt aus diesen Arbeiten geben. Er soll aber gleichzeitig den Beweis erbringen, daß die Auffindung von Arzneistoffen nur durch wissenschaftliche Forschungsarbeit möglich ist, die sich um so fruchtbarer auswirken wird, je enger die Zusammenarbeit zwischen den einzelnen medizinischen und chemischen Laboratorien ist.

Leverkusen a. Rh.
Januar 1933.

Pharmazeutische Abteilung
I. G. Farbenindustrie AG.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

<i>H. Hörlein</i>	Medizin und Chemie	7
<i>C. L. Lautenschläger</i>	Die Erforschung von Naturstoffen für die Schaffung wertvoller Arzneimittel	26
<i>L. Benda</i>	Chemotherapeutische Akridinpräparate.	45
<i>W. Schulemanu</i>	Chemische Konstitution und Wirkung von Arzneistoffen	53
<i>F. Laquer</i>	Wege und Ziele der Vitaminforschung.	61
<i>R. Bieling</i>	Die Entwicklung der Lehre von der Immunität	76
<i>R. Schnitzer</i>	Die Entwicklung der Chemotherapie bakterieller Infektionen	85
<i>W. Krikuth</i>	Die Immunität bei Protozoen-Erkrankungen	99
<i>H. Schmidt-Elberfeld</i>	Zur vergleichenden Betrachtung chemotherapeutisch wirksamer Elemente	111
<i>G. Domagk</i>	Neuerungen auf dem Gebiete der histologischen Technik	126
<i>H. Schmidt-Marburg</i>	Die heutigen Methoden der Diphtheriebekämpfung	137
<i>O. Schaumann</i>	Suprarenin und verwandte Verbindungen für die Lokalanästhesie	158
<i>M. Bockmühl</i>	Antipyretica und Analgetica der Pyrazolonreihe	169
<i>H. Weese</i>	Aus der Entwicklung der Schlafmittelsynthese	190
<i>R. Rigler</i>	Chemisch-physiologische Grundlagen der Arbeitshyperämie	198
<i>F. Schönhöfer</i>	Studien in der Reihe der Chinaalkaloide . . .	207
<i>R. Fußgänger</i>	Die Standardisierung des männlichen Sexualhormons	213
<i>O. Wagner</i>	Biologische Grundlagen zur experimentellen Therapie der Wurmkrankheiten	227



MEDIZIN UND CHEMIE

PROF. DR. PHIL. DR. MED. h. c. H. HÖRLEIN
Wuppertal-Elberfeld

Als ich vor Jahresfrist die Aufgabe übernommen habe, auf der diesjährigen Tagung über moderne Zusammenhänge zwischen Medizin und Chemie zu referieren, habe ich mit Absicht einen allgemeinen Titel gewählt, um die Freiheit zu haben, über derzeit aktuelle Fragen zu sprechen.

Seit jeher ist die Chemie neben der Physik und anderen Naturwissenschaften einer der Grundpfeiler der Medizin gewesen, aber noch zu keiner Zeit hat die Chemie — soweit ich sehen kann — medizinisches Denken und Handeln in so weitem Ausmaß beeinflußt wie heute. Und umgekehrt, noch nie zuvor haben medizinische Probleme so sehr die Chemiker interessiert wie in unseren Tagen. Man braucht z. B. nur einen Blick auf das diesjährige Tagungsprogramm der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte zu werfen, um das zu erkennen. Ein Hauptthema der gemeinsam mit verschiedenen medizinischen Abteilungen tagenden Fachgruppe für Chemie bildet die Biologie und Chemie der Sexualhormone, und die Referenten für dieses Thema, die Herren *Butenandt* und *Zondek*, sind bezeichnender-

Vortrag gehalten auf der Tagung der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte in Wiesbaden am 28. September 1932.

weise ein organischer Chemiker und ein Frauenkliniker. Wohl in allen deutschen Frauenkliniken werden heute chemische Fragestellungen durchdacht und bearbeitet, und ich glaube nicht zuviel zu sagen, wenn ich behaupte, daß durch die Lehre von den Hormonen die Gynäkologie einen ganz neuen wissenschaftlichen Impuls bekommen hat, während noch vor einigen Jahren mehr die klinische und die technische Seite dieses Lehrfachs im Vordergrund stand. Umgekehrt suchen nun die Chemiker tiefer als früher in medizinische Denkweise einzudringen. Auf manchen Universitäten ist die Physiologie als offizielles Prüfungsfach für das chemische Doktorexamen zugelassen und an einigen chemischen Universitätsinstituten werden jetzt pharmakologische und physiologische Versuche an Ort und Stelle ausgeführt. Überall werden neue Gelegenheiten für die Zusammenarbeit von Mediziner und Chemiker geschaffen. In Heidelberg wurde das *Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizinische Forschung* errichtet und in Großbritannien ist unter der Leitung des *Privy Council for Medical Research* eine umfassende Organisation entstanden, die alle Zweige medizinischer Forschung, insbesondere auch die Zusammenarbeit zwischen Mediziner und Chemiker auf Universitäten und in besonderen Instituten bei physiologischen, biochemischen und chemotherapeutischen Fragestellungen in großzügiger Weise unterstützt und fördert. Glücklicherweise ist auch die deutsche Chemie auf die Beschäftigung mit medizinischen Problemen gut vorbereitet. Schon immer hat die Untersuchung physiologisch wichtiger Roh- und Stoffwechselprodukte das Interesse unserer besten organischen Chemiker gefunden. Um nur einige Namen zu nennen, möchte ich an die Arbeiten von *Emil Fischer* über Zuckerarten und Eiweißstoffe, von *Willstätter* über Fermente, von *Wieland* über Gallensäuren, von *Windaus* über Sterine und von *Hans Fischer* über den Blut- und Gallenfärbstoff erinnern. Viele von Ihnen werden den glänzenden Vortrag von *Hans Fischer* über Hämin, Bilirubin und *Urobilinone* und den

medizinischen Parallelvortrag von *Borst* über die Morphologie der Porphyrine auf der letzten Königsberger Tagung in bester Erinnerung behalten haben.

Diese Liste macht natürlich auf Vollständigkeit keinen Anspruch. Es ist praktisch unmöglich, in einem kurzen Vortrag alle die Gebiete zu berücksichtigen, die heute das Interesse der Mediziner und Chemiker gleichmäßig erwecken, sei es, daß sie, wie z. B. die Untersuchungen über kristallisierte Enzyme oder über Glykolyse und Atmung noch zu keinerlei praktischen Konsequenzen geführt haben, sei es, daß sie gleich den Arbeiten über Muskelkontraktion und körpereigene Kreislaufstoffe dem Internisten neue Waffen am Krankenbett in die Hand gegeben haben.

Wenn früher die klassische pharmazeutische Chemie die Hauptmittlerin zwischen Medizin und Chemie war, so traten im Laufe der Zeit die physiologische Chemie und die Chemotherapie als sich selbstständig entwickelnde Forschungs- und Lehrfächer in die Erscheinung. Die Bindungen zwischen Mediziner und Chemiker in diesen drei Disziplinen waren und sind nun ganz verschiedene. Die pharmazeutische Chemie hat ihre Wurzeln in der chemischen Bearbeitung natürlicher Arzneistoffe, woran sich später die Herstellung der synthetischen Heilmittel anschloß und ihren Berührungspunkt mit der Medizin in der Pharmakologie, jener Wissenschaft, die die qualitative und quantitative Auswertung dieser natürlichen und künstlichen Heilmittel im experimentellen Versuch durchzuführen hat. Prüferin in letzter Instanz und Nutznießerin dessen, was der Anwendung am kranken Menschen für wert befunden wurde, blieb und bleibt die klinische Medizin.

Viel enger sind die Bindungen zwischen Mediziner und Chemiker bei der Chemotherapie. Die Herausarbeitung des notwendigen Testobjekts, das für die serienweise Erprobung chemischer Substanzen geeignet ist, einerseits und die Herstellung dieser Substanzen und ihre Variation je nach dem Ergebnis des experimentellen Versuchs und der sich

anschließenden klinischen Erprobung andererseits führen mit Notwendigkeit zu einer engen Zusammenarbeit von Mediziner und Chemiker. Auf Grund unserer eigenen Erfahrungen bei der Auffindung neuer Tropenheilmittel glaube ich sagen zu können, daß der Mediziner der erfolgreichste Chemotherapeut bei der Schaffung neuer spezifischer Heilmittel sein wird, der die besten Chemiker zu seiner Verfügung hat und daß die Chemiker mit der größten Aussicht auf Erfolg an die Synthese derartiger Substanzen herangehen können, die das Glück haben, mit einem in der Auffindung und Ausarbeitung neuer Testobjekte erfolgreichen Mediziner zusammenzuarbeiten. *Ehrlich*, der Gründer der Chemotherapie, war nicht nur ein ausgezeichneter Mediziner, er verfügte darüber hinaus über beträchtliche chemische Kenntnisse und hatte es außerdem verstanden, eine reibungslose Zusammenarbeit seines Laboratoriums mit tüchtigen Chemikern sicherzustellen. In den angelsächsischen Ländern hat sich neuerdings für eine derartig organisierte Zusammenarbeit an großen Problemen, deren Lösung über die Kräfte eines einzelnen Forschers und über den Rahmen einer Wissenschaft hinausgeht, die Bezeichnung *team work* eingebürgert, während man den Organisator einer derartigen Gemeinschaftsarbeit, in dessen Hand alle Fäden zusammenlaufen, als den *leader of the team* bezeichnet. Diese Ausdrücke stammen an sich aus der Sportsprache, sind aber in Amerika und England jetzt auch in wissenschaftlichen Kreisen allgemein üblich geworden, speziell auch für die Zusammenarbeit im biologischen Grenzgebiet.

Außerordentlich verschieden liegen die Beziehungen zwischen Mediziner und Chemiker bei der physiologischen Chemie und der chemischen Physiologie. Hier führt je nach dem Stand des betreffenden Problems bald die Klinik, bald die experimentelle Medizin, bald die Chemie. Entscheidend für die moderne Richtung auf diesem Arbeitsgebiet ist der Befund, daß die im tierischen und pflanzlichen Organismus gebildeten Stoffe neben ihrer statischen auch eine dynamische Bedeutung haben, daß

in Sonderfällen diese Stoffe auch pharmakologische Wirkungen besitzen und damit zu Heilmitteln werden. Es sind dies in erster Linie die Hormone und Vitamine. Die Problemstellungen auf diesem Gebiet gehen meist von der Klinik aus. *Addison* sowohl wie *Minkowski* waren Kliniker. Die Auffindung des Testobjektes ist dagegen in der Regel durch die experimentell arbeitende Medizin erfolgt, wie z. B. durch *Banting* und *Best* beim Insulin, durch *Allen* beim Brunsthormon. Die Reindarstellung der wirksamen Substanzen aus dem tierischen Ausgangsmaterial geschah dann durch physiologische oder reine Chemiker, durch *Fürth* beim Adrenalin, durch *Kendall* beim Thyroxin, durch *Doisy* und *Butenandt* bei den Sexualhormonen. Die Synthese endlich ist natürlich ganz Sache der Chemiker, *Stolz* hat das Adrenalin, *Harington* das Thyroxin aus seinen Elementen hergestellt. Oft genug gibt die chemische Reindarstellung eines Körpers wieder zu neuen medizinischen Fragestellungen Anlaß. Es sei nur an die nach Tausenden zählenden Publikationen erinnert, die sich an die Herstellung des Insulins und Thyroxins anschlossen.

Außer den Hormonen in engerem Sinn entstehen im Organismus andere pharmakologisch wirksame Stoffe, die ebenfalls ihre Auffindung der gemeinsamen Arbeit von Mediziner und Chemiker verdanken. Die perorale Lebertherapie wurde von den Bostoner Ärzten *Minot* und *Murphy* und dem physiologischen Chemiker *Edwin Cohn* gemeinsam geschaffen. *Gänßlen*, der als erster eine erfolgreiche Injektionstherapie mit Leberpräparaten angab, ist ebenfalls Kliniker. Für den reinen Chemiker fehlt auf diesem Gebiet noch die richtige Betätigungs möglichkeit, weil noch kein geeignetes Testobjekt vorliegt, das es ermöglicht, in großen Versuchsreihen festzustellen, in welcher Fraktion jeweils das wirksame Prinzip vorhanden ist. Es liegt hier eine dankbare Aufgabe für die experimentelle Medizin vor.

Bei dem Pankreaskreislaufhormon arbeitete von vornherein der Mediziner *Frey* mit dem Chemiker *Kraut* zusammen,

untersuchen, nachdem durch *Went* und *Kögl* aus Utrecht schon auf dieser Tagung in der chemischen Abteilung über die Bedeutung und die Chemie des Wuchsstoffes der Pflanze berichtet wird.

Dieselbe Entwicklung wie beim antineuritischen Vitamin findet man bei den anderen Vitaminen wieder. Kliniker, experimentelle Mediziner und Chemiker aller Kulturnationen arbeiten an der Lösung dieser Fragen. Beim A-Vitamin stehen z. Zt. die chemischen Forschungen im Vordergrund, nachdem es durch den experimentellen Versuch sichergestellt ist, daß man mit dem in der Natur weit verbreiteten und relativ leicht in kristallisiertem Zustand darstellbaren Carotin eine Vitamin A-Wirkung erhält. Es sind vor allem die Chemiker *v. Euler*, *Karrer* und *Kuhn*, denen wir den raschen Fortschritt unserer Erkenntnisse auf diesem Gebiet verdanken.

Beim antiskorbutischen C-Vitamin, das im vergangenen Jahr als Narkotinabkömmling angesprochen wurde, zeigen kritische Nachprüfungen, wie sie beispielsweise kürzlich von *Dalmer* und *Moll* aus dem wissenschaftlichen Laboratorium der Firma Merck in Darmstadt veröffentlicht worden sind, wie wichtig die Verbindung von chemischer Forschung mit exakt arbeitenden Tierversuchen ist, wenn man sich vor übereilten Schlußfolgerungen sichern will. Die Frage der chemischen Natur des Vitamin C muß als noch im Fluß befindlich betrachtet werden.

Was das antirachitische Vitamin angeht, so verdankt man die grundlegende Erkenntnis, daß es sich bei der Rachitis um eine Mangelkrankheit handelt, gleichfalls einem Arzt, dem Engländer *Mellanby*. Die Ausarbeitung der Rattenrachitis als Testobjekt ist das Verdienst amerikanischer Physiologen, speziell von *Mc Collum* in Baltimore. Die therapeutische Bedeutung des ultravioletten Lichts bei der Behandlung der kindlichen Rachitis wurde von dem Berliner Arzt *Huldschinsky* erkannt, die antirachitische Aktivierbarkeit von Nahrungs- und

Futtermitteln ungefähr zu gleicher Zeit durch den New Yorker Pädiater *Hess* und den physiologischen Chemiker *Steenbock* in Madison. Bald war festgestellt, daß es die unverseifbaren Bestandteile der Fette und Öle, die Sterine, waren, denen die Aktivierbarkeit durch ultraviolettes Licht zukommt, und nun setzte ein lebhafter Wettkampf amerikanischer, englischer und deutscher Chemiker um die Auffindung des eigentlichen Provitamins und des daraus durch Ultraviolettbestrahlung herstellbaren antirachitischen Faktors ein. Als Provitamin ist seit Jahren das Ergosterin bekannt. Um die Auseinanderfraktionierung des daraus durch ultraviolette Bestrahlung erhältlichen Gemisches und die Reindarstellung des in diesem Gemisch enthaltenen antirachitisch wirksamen Stoffes haben sich neben den Chemikern des *National Institute for Medical Research* in London in erster Linie *Windaus* und seine Schule verdient gemacht, und es war dann auch ein Schüler von Windaus, der in unserem biochemischen Laboratorium tätige *Linser*, dem es in enger Zusammenarbeit mit seinem früheren Lehrer als erstem gelungen ist, den antirachitisch aktiven Stoff in reiner kristallisierter Form zu gewinnen, was kurz nachher auch in London auf anderem Wege zustande gebracht wurde. Immerhin fehlt in dieser Untersuchungsreihe noch der Schlußstein, nämlich der direkte Vergleich dieses synthetisch herstellten antirachitischen Vitamins mit dem aus Lebertran isolierten antirachitisch wirksamen Stoff. Solange dieser Vergleich aussteht, muß die Frage als eine offene behandelt werden, ob das synthetisch herstellbare Vitamin absolut identisch ist mit dem antirachitischen Faktor des Lebertrans oder nicht. Für den Kinderkliniker ist jedenfalls mit der Herstellung des kristallisierten synthetischen Vitamins D die Frage einer exakten Dosierung bei Rachitis erledigt. Wie aber hinter jedem der Lösung zugeführten Teilproblem sofort eine ganze Anzahl neuer Fragestellungen auftauchen, so auch hier: Was ist der Grund, daß ein durch Lichtenergie strukturell veränderter, dem Ergosterin isomerer

Körper entgegen dem Ausgangsmaterial und den Zwischenprodukten dieser Umwandlung, dem Lumisterin und Tachysterin, eine derart enorme Wirkung bei Rachitis ausübt, wo ist der Angriffspunkt dieser Wirkung, wie ist ihr Mechanismus?

So laufen eine ganze Anzahl von Problemstellungen, die den Mediziner und Chemiker in gleicher Weise beschäftigen, nebeneinander her. Im Interesse der Übersichtlichkeit habe ich mich bemüht, diese Linien nur schematisch und mit breiten Strichen zu zeichnen. Die Wirklichkeit ist natürlich viel verwickelter. Vielfach kreuzen sich die von mir gestreiften Arbeitsrichtungen. Es behauptet sich selbstverständlich auch die alte synthetische, pharmazeutische Chemie neben der moderneren Erforschung der im Organismus selbst gebildeten Pharmaka. Sie kann von ihr auf neue Körpergruppen gelenkt werden. So regte beispielsweise die Konstitutionsermittlung des Adrenalins zu Synthesen in der Adrenalingruppe an, um neue gefäßwirksame Stoffe zu finden. In dieser Arbeitsrichtung liegt ebenfalls für die zukünftige Entwicklung ein aussichtsreiches Gebiet. Die Chemie kann auch hier die Geheimnisse der Natur abzulauschen versuchen, um sie dann in selbständiger Arbeit zu übertreffen. Vielleicht überragen später einmal synthetische Hormone und Vitamine ihre natürlichen Vorbilder so weit, wie heute echte Indanthrenfarben die von Natur gelieferten Farbstoffe, den Indigo und den Purpur der Alten.

Die einleitenden Worte des Herrn Vorsitzenden und der erste Vortrag der heutigen Sitzung galten einer Ehrung für *Robert Koch*, den Altmeister der Erforschung der Infektionskrankheiten. Es sei mir daher gestattet, in der zweiten Hälfte meines Referats — und zwar gleichfalls an Hand unserer eigenen Erfahrungen — etwas ausführlicher auf die Zusammenarbeit von Mediziner und Chemiker bei der Bekämpfung der Infektionskrankheiten einzugehen. Eine unendliche Arbeit liegt m. E. auf diesem Gebiet noch vor. Wohl existieren neben Impfstoffen und Seren, z. B. dem Diphtherieserum und dem

Tetanusantitoxin — deren chemische Bearbeitung übrigens auch seit Jahrzehnten noch ihres Angriffs wartet und hoffentlich in absehbarer Zeit mit den immer mehr verfeinerten chemischen Methoden in Angriff genommen werden kann — eine ganze Anzahl synthetischer Heilmittel, speziell auf dem Gebiet der Protozoenerkrankungen. Dagegen liegt das Gebiet der bakteriellen und der durch ultravisible Vira bedingten Erkrankungen für eine Gemeinschaftsarbeit von Mediziner und Chemiker noch absolut offen. Im folgenden möchte ich an zwei konkreten Beispielen zeigen, wie es auch auf dem Gebiet der Infektionskrankheiten möglich ist, durch eine solche gemeinsame Arbeit immer mehr auch diese verheerenden Seuchen unter die Kontrolle der praktischen Medizin zu bringen. Meine Ausführungen gelten der Entstehung der derzeit optimalen Heilmittel gegen Kala-azar und Malaria.

Bei Kala-azar handelt es sich um eine hauptsächlich in Indien und in China epidemisch verbreitete Volksseuche, die entweder akut oder chronisch verläuft, sich durch Milz- und Leberschwellungen, Haut- und Schleimhautblutungen, gangränöse und dysenterische Erscheinungen auszeichnet, mit einer schweren Anämie verbunden ist und in fast allen Fällen mit dem Tode endet. Die Zahl der Kranken schätzte *Napier* in Calcutta allein in der indischen Provinz Bengal im Jahre 1923 auf eine Million. In der Provinz Assam sollen es nicht viel weniger gewesen sein. Wie hoch die Zahl der Erkrankungsfälle in China ist, lässt sich heutzutage auch nicht schätzungsweise beurteilen.

Die Krankheit wird durch ein Protozoon hervorgerufen, das 1903 von *Leishman* und *Donovan* fast gleichzeitig und unabhängig als Erreger entdeckt worden ist und den Namen *Leishmania Donovanii* erhalten hat.

Bis zum Jahre 1915 stand man dieser Krankheit, die außer in Indien und China auch am Mittelmeerbecken, dort namentlich bei Kindern, vorkommt, vollkommen machtlos

gegenüber und mußte sich mit einer rein symptomatischen Therapie behelfen, die vielleicht den Kranken Linderung verschaffte, aber den Tod in fast 98 % der Fälle nicht zu verhindern vermochte. Mit Einführung der Antimontherapie in Form des Brechweinsteins im selben Jahre durch *Rogers* in Indien wurde ein tiefgreifender Wandel geschaffen.

Die Anwendung des Antimons als Heilmittel geht auf die älteste Zeit der menschlichen Kulturgeschichte zurück. Die Einführung des Antimons in die moderne Therapie, namentlich in die Chemotherapie, verdanken wir einer Beobachtung von *Plimmer* und *Thomson* im Jahre 1907, die mit Trypanosomen infizierte Ratten durch Einspritzung von Brechweinstein, wenigstens für eine gewisse Zeit, von ihren Parasiten befreit hatten. Bald darauf wurde die Heilwirkung des Brechweinsteins bei der menschlichen Schlafkrankheit und bei den verschiedensten tierischen Trypanosen entdeckt (*Broden, Manson, Hornby*). Im Jahre 1913 fand *Vianna* in Brasilien, daß die dort verbreitete Hautleishmaniose, deren Erreger in verwandtschaftlichen Beziehungen zu dem Erreger der Kala-azar steht, durch Brechweinstein beeinflußbar ist. 1915 berichteten *Di Christina* und *Caronia* in Neapel über Heilerfolge bei der Kinderleishmaniose und im selben Jahr wurde diese Therapie, wie schon gesagt, von *Rogers* im Hauptepidemiegebiet Britisch-Indien angewandt.

Obgleich der Erfolg in vielen Fällen ein guter war, bewegte sich die Sterblichkeit trotz der Brechweinsteintherapie noch zwischen 15—25 % der zur Behandlung kommenden Fälle. Es kam hinzu, daß sich eine solche Behandlung auf 2 bis 3 Monate erstreckte und daß der Brechweinstein von vielen Patienten sehr schlecht vertragen wurde und auch bei den geheilten Personen zu schweren gesundheitlichen Störungen führte. Hunderttausende von Menschen konnten zwar durch den Brechweinstein gerettet werden, Zehntausende sind aber trotz der Anwendung des Brechweinsteins gestorben bzw. diesem

in hoher Dosierung anzuwendenden Mittel zum Opfer gefallen oder durch dasselbe in ihrer Gesundheit schwer geschädigt worden.

So war der Wunsch mehr als berechtigt, mit Hilfe der synthetischen Chemie nach Antimonverbindungen zu suchen, die zwar die Heilwirkung des Brechweinsteins aufweisen, ohne aber die giftigen und unangenehmen Nebenwirkungen zu haben.

Diese Arbeit ist gemeinsam von *Uhlenhuth* und seinen medizinischen Mitarbeitern und dem Chemiker *Hans Schmidt* in Angriff genommen worden.

Viele hunderte von organischen Antimonverbindungen hauptsächlich der aromatischen Reihe wurden im Laufe der Zeit von *Schmidt* dargestellt und von *Uhlenhuth* und *Kuhn* auf ihre therapeutische Wirksamkeit bei der Trypanosomeninfektion der Maus in über viele Jahre sich hinziehenden Versuchen geprüft. Ein Modellversuch mit den Erregern der Kala-azar selbst, den Leishmanien, stand damals noch nicht zur Verfügung.

Ausgehend von der durch Diazo-Synthese gewonnenen p-Aminophenylstibinsäure erwies sich zunächst das Natriumsalz dieser Säure, das *Stibamin*, als verwendbar. Durch Substitution in der Aminogruppe wurden noch bessere Präparate erzielt. Besonders wirksam in chemotherapeutischen Versuchen zeigte sich das *Stibenyl* (p-acetylaminophenylstibinsaures Natrium), das 1915 mit gutem Erfolg von *Caronia* in Italien bei Kinderleishmaniose angewendet wurde und gegenüber dem Brechweinstein eine wesentliche Verkürzung der Behandlungszeit und eine bessere Verträglichkeit aufwies.

Ein weiterer Fortschritt wurde mit dem *Stibosan* erzielt, das eine Substitution am Benzolkern selbst aufweist und das p-acetyl-m-chlorphenylstibinsaure Natrium darstellt. Das an der trypanosomeninfizierten Maus ausgewertete und wirksam gefundene Präparat wurde von *Napier* in dem Tropeninstitut von Calcutta bei Kala-azar-Patienten mit Erfolg angewandt,

während von dem Inder *Brahmachari* das durch Einwirkung von Harnstoff auf p-Aminophenylstibinsäure gewonnene Ureastibamin zur Anwendung empfohlen wurde.

Mehrjährige Erfahrungen in Indien hatten jedoch gezeigt, daß alle bisher genannten Verbindungen noch verbesserungsfähig waren. Der letzte und erfolgreichste Schritt auf dem Wege der Herstellung eines optimalen Mittels gegen Kala-azar in der Zusammenarbeit von *Napier* in Calcutta mit unseren Laboratorien in Elberfeld geschah erst im Laufe der letzten Jahre. Durch systematische Arbeit auf komplex- und kolloidchemischem Gebiet gelang es *Hans Schmidt*, ausgehend von dem p-aminophenyl-stibinsauren Diäthylamin eine Reihe von Derivaten mit stark verminderter Giftigkeit zu erhalten, unter denen jenes Präparat, das später den Namen Neostibosan bekommen hat, nach den pharmakologischen Versuchen von *Eichholtz* sich als besonders ungiftig erwies. Es hatte nur den einen Fehler, daß es bei dem damaligen Testobjekt, der Nagana-maus, keinerlei Wirkung zeigte. Glücklicherweise fand *Roehl* in unserem chemotherapeutischen Laboratorium zu jener Zeit, daß der Hamster, dessen Infizierbarkeit mit Kala-azar vorher von *Meleney* und *Young* sowie von *Martin Mayer* angegeben worden war, sich auch als Testobjekt für die Auswertung synthetischer Präparate eignete. Es ergab sich für das neue Präparat ein therapeutischer Index von 1 : 50 gegenüber 1 : 5 bis 1 : 7 für das Stibosan.

Die klinische Prüfung bestätigte die Erwartungen, die man auf Grund dieser Laboratoriumsversuche hegen konnte. *Napier* fand, daß das Produkt bei Kala-azar hochwirksam war ohne irgendwelche unangenehmen Nebenerscheinungen. Bei seinen mehrjährigen Versuchen ergab sich, daß selbst die schwersten Fälle von Kala-azar durchschnittlich bis zu 98 % mit 8—10 intravenösen oder intramuskulären Neostibosan-Injektionen geheilt werden. Abgesehen von der Zuverlässigkeit der Wirkung besteht ein großer Vorteil in der wesentlichen

Verkürzung der Behandlungszeit. Während eine Brechweinsteinkur durchschnittlich 2—3 Monate dauert, kommt man mit einer 8—10tägigen Neostibosan-Kur aus. Das Problem der chemotherapeutischen Heilung kann somit bei der fast immer tödlichen Erkrankung an Kala-azar in geradezu idealer Weise durch die synthetische Chemie als gelöst betrachtet werden.

Ähnliche therapeutische Fortschritte wie bei Kala-azar sind bei der Malaria erzielt worden. Vor 6 Jahren konnte ich auf der Naturforscherversammlung in Düsseldorf über die chemischen Grundlagen und die Entwicklungsgeschichte des Plasmochin berichten. Um mich nicht zu wiederholen, verweise ich auf diesen Vortrag und möchte nur noch einmal kurz den Unterschied in der Wirkungsweise des Chinins und des Plasmochin folgendermaßen zusammenfassen: Während das Chinin bei allen drei Formen der Malariaparasiten wirksam ist, aber so gut wie keine Wirkung gegenüber den Geschlechtsformen der *Malaria tropica*, den Gameten besitzt, ist das Plasmochin bei der *Malaria tertiana* und *quartana* dem Chinin zum mindesten ebenbürtig, steht ihm jedoch nach in der Wirkung gegenüber den ungeschlechtlichen Formen der *Malaria tropica*, den sogenannten Schizonten. Dafür entfaltet Plasmochin die beim Chinin nicht vorhandene Eigenschaft, in größeren Dosen die Halbmonde zu vernichten und in kleineren Dosen die weitere Entwicklung der Halbmonde in der Mücke zu verhindern. Hierin liegt wohl die größte Bedeutung des Plasmochin, denn erst jetzt wurde es möglich, den Entwicklungszyklus Mensch—Mücke—Mensch radikal zu unterbrechen und damit eine Sanierung auf medikamentösem Wege mit der Hoffnung auf Erfolg einzuleiten. Das Plasmochin wurde das Mittel der Wahl, an tropischer Malaria infizierte Kranke für ihre Nachbarmenschen ungefährlich zu machen, weil sich gerade an den durch Chinin nicht beeinflußbaren Gameten die *Anopheles* infiziert, um nach 8—14 Tagen ihrerseits wieder für den nächsten Menschen infektiös zu werden.

Die Anwendung des Produkts erfolgt hauptsächlich in der Form einer Kombination mit Chinin, durch die auch die Rezidivrate bei schwerer Malaria tertiana von durchschnittlich 50 % auf 3 bis 5 % herabgesetzt wird. Ferner hat das Plasmochin nach den exakten Versuchen von James eine gewisse kausal prophylaktische Wirkung gegen die Sporoziten, die durch den Mückenstich in den menschlichen Organismus gelangen, während mit Chinin nach Warrington Yorke und Macfie nur eine symptomatische Prophylaxe möglich ist. Die so viel gerühmte Chininprophylaxe muß nach diesen neuen englischen Forschungen als eine häufig ungenügende Malariabehandlung angesehen werden, die zwar akute Malariaanfälle unterdrückt, die Plasmodien aber nicht mit Sicherheit abtötet, so daß es nach Aufhören der prophylaktischen Chinindarreichung dann wieder zu Fieberanfällen kommen kann.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß mit dem Plasmochin ein neuartig wirkendes zweites Malariamittel geschaffen wurde, daß aber andererseits das Chinin durch das Plasmochin nicht in vollem Umfang ersetzt werden kann, so daß das Problem, ein verbessertes Chinin zu finden, nach wie vor bestehen blieb. Dieser Aufgabe galt ein wesentlicher Teil der Arbeiten unserer Forschungslaboratorien in den letzten Jahren.

Um zu dem erstrebten Ziel zu gelangen, mußte der Modellversuch weiter ausgebaut werden, denn der Unterschied von Chinin und Plasmochin in therapeutischer Beziehung, der namentlich bei der Malaria tropica vorhanden war, konnte nach der Roehlschen Methode bei der Vogelmalaria nicht erkannt werden. Es war nur ein quantitativer, aber kein prinzipieller Unterschied vorhanden.

Nach dem Tode unseres leider viel zu früh verstorbeneen Roehl wurden die chemotherapeutischen Versuche von seinem Nachfolger, Kikuth, weiter fortgeführt. Er begann seine Untersuchungen mit verschiedenen Stämmen von Vogelmalaria, die sich in morphologischer, klinischer und immunbiologischer

Beziehung voneinander unterscheiden. Die Hoffnung, bei diesen Stämmen einen prinzipiellen Unterschied nachzuweisen, schlug fehl.

Erst als die Haemoproteusinfektion der Reisfinken zum weiteren Ausbau des Modellversuches herangezogen wurde, gelang es, einen wichtigen Fortschritt zu erzielen und einen grundlegenden Unterschied der beiden Standardpräparate Chinin und Plasmochin herauszuarbeiten.

Während das Plasmochin bei der Vogelmalaria in prinzipiell gleichem Sinne wie das Chinin wirkt, ist das Bild bei der Haemoproteusinfektion der Reisfinken so, daß die im peripheren Blut sichtbaren Gameten wohl durch Plasmochin, nicht aber durch Chinin abgetötet werden, daß dagegen Rezidive auch durch Plasmochin nicht verhindert werden können, sondern nur durch eine Kombination von Plasmochin und Chinin. *Kikuth* schloß daraus, daß das Chinin, das bei der Haemoproteusinfektion selbst keine sichtbare Wirkung hat, die in diesem Falle nur in den Endothelzellen der inneren Organe vorhandenen Schizonten schädigt, aus denen sich bekanntlich die Gameten entwickeln. An Hand dieses neuen Testobjektes glückte es dann auch bald, synthetische Präparate zu finden, die in ihrer Wirkungsweise mehr dem Chinin als dem Plasmochin glichen. Unter diesen Präparaten zeichnete sich ein der Akriderreihe angehöriges Produkt aus, das in dem von *Schulemann* geleiteten chemischen Laboratorium unseres Werkes von *Mauss* und *Mietzsch* hergestellt worden war.

Die von *Kikuth* auf Grund seiner experimentellen Versuche ausgesprochene Vermutung, daß das neue Produkt bei der Malaria tropica in erster Linie ein Schizontenmittel sein müßte, hat sich in vollem Umfang bestätigt. Zunächst wurde die Wirksamkeit des Präparates bei der Impfmalaria der Paralytiker von *Sioli* festgestellt. Die ersten Heilungen von Malaria tropica wurden von *Peter* in Rumänien durchgeführt, auf breiter Basis wurde das Präparat dann im Laufe der letzten Jahre von *Mühlens* und seinen Mitarbeitern im Hamburger Tropen-

institut sowie an den verschiedensten Stellen der Tropen und Subtropen der ganzen Welt geprüft, so daß sich heute schon viele Tausende damit behandelter Fälle übersehen lassen. Wenn sich auch endgültige Schlußfolgerungen natürlich erst in späterer Zeit ziehen lassen werden, so kann doch heute schon das Folgende über das im Frühjahr dieses Jahres unter dem Namen Atebrin in den Arzneischatz eingeführte Präparat mit Sicherheit gesagt werden:

Die Behandlungsdauer mit Atebrin erstreckt sich im Durchschnitt auf 5 bis 7 Tage im Gegensatz zu einer 2- bis 3wöchentlichen Chininbehandlung. Die erforderliche Gesamtdosis des Produkts beträgt 1,5 bis 2 g, von Chinin 20 bis 30 g. Die Rezidivrate, die bei der Chininbehandlung namentlich bei der Malaria tertiana außerordentlich hoch ist und durchschnittlich 50 % beträgt, sinkt bei der Atebrin-Behandlung auf ein Minimum herab. Das Präparat kann bei Schwarzwasserfieber und Chininidiosynkrasie ohne Gefahr gegeben werden und ist daher bei Komplikationen besonders begrüßt worden. Die Verträglichkeit ist gut, insbesondere fehlen alle Nebenerscheinungen, die beim Chinin, namentlich bei einer längeren Behandlungsdauer, von den Patienten unangenehm empfunden werden. Als ein Schönheitsfehler muß jedoch, besonders bei anaemischen Patienten, die leichte Gelbfärbung der Haut angesehen werden, die aber nicht auf eine Leberschädigung zurückgeht, sondern durch den Farbstoffcharakter des Präparats bedingt ist und nach 14 Tagen völlig abklingt.

Das Plasmochin ist das erste synthetische Gametennittel, das Atebrin das gesuchte synthetische Schizontennittel. Es fehlt heute noch ein kausales Mittel für die Malaria- Prophylaxe. Das Plasmochin hat, wie bereits erwähnt, eine gewisse kausal prophylaktische Wirkung, es ist aber für diese Indikation in schützenden Dosen bei dauernder Einnahme zu toxisch. Über das Atebrin läßt sich in dieser Beziehung noch nichts Sichereres sagen. Sollte es für Prophylaxeversuche

nicht in Betracht kommen, so wird es hoffentlich der ver-einten Arbeit von Mediziner und Chemiker bald gelingen, auch diese Lücke zu schließen.

Ich habe in meinem Vortrag viel von physiologischen und chemotherapeutischen Testobjekten gesprochen, und zwar aus einem bestimmten Grund. Ich hatte die Absicht, Ihnen zu zeigen, daß an Hand solcher von vornherein wenig befriedi-gender Vergleichsobjekte wertvolle Heilmittel gefunden werden konnten. Die Rattenrachitis unterscheidet sich in wichtigen Punkten, vor allem auch morphologisch, von der Kinder-rachitis und trotzdem wurde sie der rote Faden zur schließ-lichen Herstellung des kristallisierten antirachitischen Vita-mins. Versuche an der Mäusenagana und später am Kala-azar-Hamster führten zu einem Heilmittel gegen menschliche Kala-azar, bei dem die alte *Ehrlichsche* Forderung der Therapia sterilans magna so gut wie verwirklicht werden konnte. An Hand von Infektionen am Kanarienvogel und am Reis-finken wurden die neuen Malariamittel Plasmochin und Atebrin erarbeitet. Auch bei der Krankheit, die uns alle am meisten bewegt, beim Krebs, haben wir kein den menschlichen Ge-schwülsten absolut vergleichbares Testobjekt. Oft schon hörte ich, wie Kliniker sich skeptisch zu Versuchen am Tumortier äußerten. Wenn meine Darlegungen, durch die ja der Beweis erbracht ist, daß man auch mit mangelhaften Testobjekten schließlich zu wertvollen Präparaten kommen kann, hier zu einem größeren Optimismus führen sollten, so würde ich das als den schönsten Erfolg meines Vortrags anschen. Ich schließe mit dem Wunsch, daß auch in Zukunft die experimentelle und klinische Medizin Hand in Hand mit der chemischen Wissenschaft und Technik an den vielen noch zu lösenden Problemen erfolgreich arbeiten möge und daß vor allem auch deutsche Wissenschaftler daran ihren vollen Anteil haben, zum Wohle unserer kranken Mitmenschen und zur Ehre unseres Landes.

Die Erforschung von Naturstoffen für die Schaffung wertvoller Arzneimittel

PROF. DR. ING. DR. MED. C. L. LAUTENSCHLÄGER
Frankfurt a. M.-Hoechst

Bis in die 80er Jahre des vergangenen Jahrhunderts bestanden unsere Arzneimittel fast ausschließlich aus Naturstoffen; die mineralischen lagen meist in Form verschiedener Salze vor, die organischen Arzneistoffe waren in erster Linie Drogen und mehr oder weniger gereinigte Extrakte aus pflanzlichem und tierischem Material. Mit dem Ausbau der organischen Synthese begann dann allmählich auch die künstliche Darstellung verschiedener Arzneimittel, die bekanntlich ihren Anfang nahm mit der Synthese des Sulfonal durch *Baumann*, des Kairin durch *O. Fischer*, des Antipyrin durch *Knorr*, des Phenacetin durch *Duisberg* und *Hinsberg*. Von diesen für die Therapie wichtigen Grundkörpern entwickelte sich allmählich die weitere Synthese einer Reihe wertvoller Arzneimittel für verschiedene Indikationsgebiete. Von den 90er Jahren des vergangenen Jahrhunderts bis zum Kriegsbeginn stand die Arzneimittelsynthese im Vordergrund des Interesses, und es hatte den Anschein, daß die Umarbeitung von Naturstoffen zu Arzneistoffen etwas ins Stocken geraten war. Aber in den letzten beiden Dezennien ist in der ganzen organischen Chemie ein sichtbarer Umschwung zu beobachten. Neben der Synthese lebte die biochemische Forschung wieder auf und diese Wandlung tritt besonders deutlich auch in der Arzneimittelforschung hervor. „Zurück zur Natur“ ist die Parole in den beiden letzten Dezennien, weil wir gelernt haben, daß Pflanzen und Tiere uns noch vieles an wertvollen Arzneikörpern geben, was Menschenhand noch nicht künstlich darstellen kann. Während man sich jedoch früher damit begnügte, die Naturstoffe in etwas mehr oder weniger gereinigter

Form der Therapie zuzuführen, tritt nun an Stelle der einfachen Darstellung von Extrakten die exakte biochemische und physiologische Forschung. Die Reindarstellung des Stoffes, die Feststellung der Molekül-Zusammensetzung, die Beantwortung der Frage nach der Entstehung des integrierenden Stoffes und nach seinem Zweck für die betreffende Pflanze oder das Tier und die Frage nach seiner physiologischen Wirkung stehen heute im Vordergrund unseres Interesses. Wir wollen der Natur ablauschen, auf welche einfache und rationelle Weise sie ihre Synthesen bewältigt, wie sie zu den optisch aktiven Körpern gelangt, die für die physiologische Wirkung oft eine wichtige Bedeutung haben. Das sind die großen Linien bei der heutigen Erforschung der Naturstoffe, die sich in stetig zunehmendem Tempo vollzieht, so daß es kaum mehr möglich ist, alle für die Arzneimittelforschung wichtigen Gebiete mit gleicher Intensität zu bearbeiten. An der raschen Entwicklung dieser Forschungsrichtung nimmt der Ausbau exakter physikalischer, mikrochemischer und physiologischer Arbeitsmethoden großen Anteil. Ich erinnere an die spektrographischen Kristallgitter-Untersuchungen, die die systematische Erforschung der hochmolekularen Körper außerordentlich gefördert haben, ferner an die Bestimmungen charakteristischer Absorptionsspektren im Ultraviolett, die zur Identifizierung und Trennung hochaktiver Substanzen, z. B. des D-Vitamins, erforderlich waren, oder an das Ultramikroskop, das in der Kolloidchemie viel Wertvolles zutage gebracht hat. Die interessanten Konstitutionsermittlungen, die auf dem Gebiet der Alkaloide, der Blut- und Gallenfarbstoffe, der Pflanzenfarbstoffe und der Sterine durchgeführt wurden (*Willstätter, Wieland, Windaus, Fischer, Karrer u. a.*) waren nur möglich, nachdem Methoden gefunden waren, kleine und kleinste Substanzmengen chemisch und physikalisch zu analysieren. Ebenso war es erst möglich, in den Zellstoffwechsel tieferen Einblick zu erhalten, nachdem exakte mikrochemische Meß-

methoden ausgearbeitet waren, z. B. die Bestimmung kleinster Mengen Ammoniak, Phosphorsäure oder Puringlykoside, wie sie *Embden*, *Meyerhof* u. a. für ihre Studien über die Physiologie der Muskeltätigkeit angewandt haben. Ich erinnere ferner an die exakten kinetischen Messungen, die *Willstätter* und seine Schule ausgebaut haben, um die Enzym-Wirkungen auf das Substrat zu verfolgen. Interessant ist weiterhin, zu verfolgen, wie mit dem Ausbau der biologischen Standardisierungsmethoden die biochemische Arzneimittelforschung einen starken Impuls erhielt. Die ersten noch relativ rohen pharmakologischen Untersuchungsmethoden durch *Schmiedeberg* und seine Schule sind in unserer Zeit vielfach verfeinert worden. Auf die einfache blutige Registrierung des Blutdrucks und der Spontanatmung nach Applikation von Giften folgten allmählich der Ausbau von Methoden zur Prüfung von Substanzen an isolierten überlebenden Organen, dann die Messungen an abgegrenzten Organverbänden am Tier selbst, von denen als die modernsten Methoden das *Starlingsche Herz-Lungen-Präparat* und die *Reinsche Stromuhr* zu nennen sind.

Daneben wurden ausgebaut: die physiologischen und kinematographischen Meßmethoden an überlebenden Zellverbänden, wie sie z. B. *Warburg* zu seinen Atmungsversuchen, *Carell* zu seinen Gewebsuntersuchungen und *Canti* zu seinen Krebsstudien benutzte und endlich die elektiven Vitalfärbungen und die partielle Eliminierung von lebenswichtigen Zentren nach *Magnus* und *Bijsma*, die für die Gehirnforschung große Bedeutung erlangt haben. Mit diesen vielseitigen Untersuchungsmethoden, die hier nur kurz angedeutet werden können, ist die Erforschung der Naturstoffe in den letzten zwei Dezennien besonders gefördert worden. Die wichtigsten Untersuchungsergebnisse will ich hier kurz besprechen:

Im Vordergrund der systematischen Erforschung von Naturstoffen stehen in den letzten Jahren die Hormon- und Vitamin-Untersuchungen. Auf keinem anderen Gebiet ist so

intensiv und mit so großem Erfolg gearbeitet worden wie hier. Vor zehn Jahren hatte der Kliniker von zuverlässig wirksamen Hormonen nur das kristallisierte, von *Stolz* synthetisierte Adrenalin (Suprarenin) und ein standardisiertes Extrakt aus dem Hinterlappen der Gehirndrüse zur Verfügung. Alles übrige, was sich zu jener Zeit auf dem Arzneimarkt befand, waren unreine Organ-Präparate, meist getrocknete Drüsensubstanzen, für deren Wirksamkeit niemand garantieren konnte. Es fehlten ja auch noch exakte Standardisierungsmethoden, die bei dieser Erforschung allein weiterhelfen. Sukzessiv aber mit dem Ausbau zuverlässiger biologischer Testmethoden und mit der Vertiefung der mikrochemischen Arbeitsmethoden gelang es immer mehr, in das Geschehen der innersekretorischen Tätigkeit der einzelnen Organe Einblick zu erhalten und die wirksamen Inkrete herauszuholen. Wenn man auf diesem Gebiete die wichtigsten historischen Daten nebeneinanderstellen will, so sind es die folgenden: Im Jahre 1922 waren es *Banting* und *Best* an der Torontoer Universität, die zum ersten Male, ausgehend von den 33 Jahre zuvor veröffentlichten grundlegenden Arbeiten von *v. Mering* und *Minkowski* über den experimentellen Pankreas-Diabetes, aus dem Insel-Apparat der Bauchspeicheldrüse ein haltbares wässriges Extrakt gewannen, das *Insulin*, das wir uns heute aus unserem Arzneischatz bei der Behandlung der Zuckerkrankheit gar nicht mehr fortdenken können. Den Schlußstein in dieser Entdeckungsreihe legte *Abel* in Baltimore im Jahre 1926, der aus den Insulin-Roh-Extrakten zum ersten Male das reine Produkt in kristalliner Form dargestellt hat. Nachdem nun dieser Körper vorliegt, ist es unsere weitere Aufgabe, durch sukzessiven Abbau die Konstitution des Moleküls aufzuklären und an die Synthese insulinartiger Körper heranzutreten. Vorarbeiten hierzu sind auch schon geleistet. Ich möchte nur einige interessante Untersuchungsergebnisse von *Abel*, *Jensen*, *Dudley* und *Freudenberg* erwähnen. Die bisherigen Resultate sind einmal die Bestimmung

der Molekülgröße des Insulins, die *Freudenberg* auf etwa 18000 schätzt. Ferner hat er einige charakteristische Linien im Spektrum für Insulin festgelegt. Weiter wurde festgestellt, daß das Insulin ein hochmolekularer Eiweißkörper ist, der sich aus verschiedenen bekannten Aminosäuren zusammensetzt und allen Gesetzen der Eiweißverdauung unterliegt. Nach diesen Versuchen ist wohl an eine perorale Insulin-Medikation kaum zu glauben. Fernerhin ist es *Freudenberg* gelungen, einige Acylierungen und Veresterungen durchzuführen und hierdurch verschiedene Imino- und Hydroxylgruppen im Insulin festzulegen. Auch scheinen nach den bisherigen Untersuchungen der labil gebundene Schwefel und eine als Ammoniak abspaltbare Aminogruppe für die Wirksamkeit des Insulins unentbehrlich zu sein.

Ein weiteres wichtiges Ereignis in der Hormon-Forschung war im Jahre 1919 die Isolierung und Kristallisation einer jodhaltigen aromatischen Aminosäure aus der Schilddrüse, des Thyroxins, durch *Kendall*. Die Konstitutionsformel wurde einige Jahre später (1926) von dem Engländer *Harington* aufgeklärt; hiernach ist das Thyroxin der Dijodhydrochinonäther des Dijodtyrosins. Man hätte glauben können, daß mit der Auffindung dieses hochaktiven und exakt dosierbaren kristallinen Schilddrüsenkörpers das wirksame Schilddrüsenprinzip ähnlich dem Adrenalin auf eine relativ einfache niedermolekulare Substanz, das eigentliche Hormon, zurückgeführt sei und damit die Angelegenheit der Schilddrüsentherapie völlig befriedigend geklärt wäre; aber bei der genauen pharmakologischen und klinischen Analyse stellte sich sehr bald heraus, daß wir es zwar mit einem sehr wirksamen Körper zu tun haben, der die spezifische Wirkung des Schilddrüsenhormons entfaltet, klinisch ist jedoch das Thyroxin in der Wirkung dem Thyreoglobulin nicht völlig ebenbürtig. Es ist peroral weniger wirksam und führt leichter zu Nebenerscheinungen. Das Thyroxin ist eben nur eine prosthetische Gruppe des ganzen Thyreoglobulins und wird in dieser einfach gebauten Form nach der

Applikation vom Körper sehr leicht abgebaut und rasch unwirksam gemacht. Auch ist jetzt mit Sicherheit anzunehmen, daß neben Thyroxin noch andere jodierte Körper in den Thyreoglobulin-Komplex eingebaut sind. Aus diesem Grunde hat man sich neuerdings wieder den höher molekularen thyreoglobulinähnlichen Körpern zugewandt und versucht, Körper darzustellen, in denen jodierte proteinogene Amine im Globulin-Komplex verankert enthalten sind. In gemeinsamer Arbeit mit *Blum* ist es uns gelungen, auf völlig kaltem Wege aus dem Kolloid der Schilddrüse einen wasserlöslichen hochwirksamen Thyreoglobulin-Körper zu isolieren, der frei von allen Ballaststoffen als gut verträgliches und exakt dosierbares Schilddrüsen-Präparat der Klinik übergeben werden konnte. Das „Elityran“, wie wir diesen Körper nennen, stellt die native Form des Schilddrüsenhormons dar. Es befindet sich also in dem Zustand, oder in einem ihm doch nahestehenden, wie es von der Drüse bei der inneren Sekretion in die Blutbahn abgegeben wird. So schließt sich hier ein interessanter Ring der Forschung. Ausgehend vom alten *Baumannschen* und *Oswaldschen* Thyreoglobulin hat die Entwicklung ihren Weg genommen bis zum Abbau und der Synthese des Thyroxins und, da dieses nicht den klinischen Anforderungen voll genügte, ging der Weg von hier aus wieder weiter in die Nähe des Thyreoglobulins zu dem nativen Gesamthormon, wie es von der Drüse sezerniert wird.

Aus der Nebenschilddrüse hat *Collip* wirksame Extrakte isoliert, die den Calcium - Stoffwechsel maßgebend beeinflussen; sie sind imstande, die nach Exstirpation der Epithelkörperchen auftretende Tetanie günstig zu beeinflussen.

Ein weiterer Gedenkstein in der Hormon-Forschung ist die Isolierung der Sexualhormone.

Das weibliche Sexualhormon wurde durch *Allen* und *Doisy* aus Ovarien in wirksamer Form erhalten; später gelang *Aschheim* und *Zondek* der Nachweis dieses Hormons im Harn schwangerer Frauen und trächtiger Stuten, aus dem es dann von

Butenandt, Doisy und *Marrian* in kristalliner Form erhalten wurde.

Das männliche Sexualhormon wurde aus der männlichen Keimdrüse und aus Männerharn erhalten (*C. Funk, Gallagher, Koch, Loewe, Laqueur* u. a.). *Butenandt* hat auch dieses Hormon neuerdings in kristallinischer Form isoliert. Von ihm und *Marrian* ist in letzter Zeit die Konstitutionsermittlung in Angriff genommen. Nach den bisherigen Ergebnissen sind beide Hormone sehr nahe miteinander verwandt und scheinen zu den Sterinen in enger Beziehung zu stehen.

Parallel mit diesen Forschungen der Sexualhormone gehen auch die Untersuchungen über den Vorderlappen der Hypophyse, von dem wir heute schon eine Anzahl verschiedener Hormone kennen. Zwei davon stehen in engem Zusammenhang mit den Sexualfunktionen und werden ebenfalls im Harn, besonders reichlich im Anfange der Schwangerschaft, ausgeschieden. Auch von diesen Hormonen liegen standardisierte Handelspräparate vor. Nach *Zondek* ist der Hypophysenvorderlappen den Keimdrüsen übergeordnet und wirkt als Motor für die Sexualfunktionen. Auch die Schildrüsentätigkeit wird weitgehend durch ein thyreotropes Hormon, das sich im Hypophysenvorderlappen findet, gesteuert; auch dieses Inkret ist als einheitliche Fraktion bereits isoliert worden. Ein weiteres Hormon des Hypophysenvorderlappens ist ein sehr labiles Wachstumshormon, das *Evans* aufgefunden und näher charakterisiert hat.

Ferner sind die interessanten Arbeiten von *Kamm* und *Aldrich* zu erwähnen, die das Inkretgemisch des Hypophysenhinterlappens in zwei pharmakologisch definierbare Fraktionen zerlegt haben: einmal die, welche ausschließlich auf die glatte Muskulatur des Uterus wirkt; sie ist im *Orasthin* enthalten, das in der Geburtshilfe seine ausschließliche Anwendung findet. Die andere Inkretfraktion wirkt auf die glatte Muskulatur des Darms und der Blutgefäße erregend, so daß

sie als Darmtonicum und Vasomotorenmittel klinisch angewendet wird. Außerdem besitzt sie eine ausgesprochene Wirkung auf die Harnausscheidung im Sinne einer Hemmung, so daß sie beim Diabetes insipidus mit Erfolg verwendet wird. Diese Fraktion liegt im „Tonephin“ vor. Beide Inkretfraktionen sind schon außerordentlich rein; sie sind etwa 100mal wirksamer als die getrocknete Drüse. Nach den bisherigen pharmakologischen und klinischen Untersuchungen ist es wahrscheinlich, daß im uterus-tonisierenden Anteil ein einheitlicher Körper vorliegt, so daß es möglich erscheint, nach weiterer Abtrennung unspezifischer Ballaststoffe hieraus eine kristalline Verbindung zu erhalten. Die Tonephin-Fraktion scheint noch eine Mischung verschiedener Inkrete darzustellen, und es liegt nahe, sie durch weitere Aufspaltung in verschiedene pharmakologisch wirksame Komponenten zu trennen.

Für das im Zwischenlappen vorwiegend vorhandene Hormon (Intermedin), welches nach den bisherigen Versuchen auf die Chromatophoren verschiedener Kaltblüter wirkt, ist noch kein klinisches Anwendungsgebiet gefunden worden.

Aber trotz der vielen interessanten Forschungsergebnisse auf dem Hormongebiet sind noch die allermeisten Fragen unbeantwortet. Wir wissen z. B. noch nicht, ob im Hinterlappen der Hypophyse nur ein einziges Hormon gebildet wird; *Abel* neigt dieser Ansicht zu und glaubt, daß bei Aufarbeiten der Hinterlappenextrakte aus diesem Stammhormon Teilstoffe, prothetische Gruppen mit verschiedener physiologischer Wirkung abgespalten werden. Wir wissen noch nichts Endgültiges über die engen Wechselbeziehungen zwischen Hypophysenvorderlappen und Keimdrüsenapparat, besonders während der Schwangerschaft. Wir können auch noch nicht mit Sicherheit sagen, ob die mit dem Harn ausgeschiedenen Sexualhormone identisch sind mit den in den Keimdrüsen enthaltenen Inkreten. Wir wissen noch nichts Genaues über die Natur des Leberstoffes (wie er im „Campolon“ vorliegt), der bei perniziöser Anämie

eine so günstige Wirkung auf den blutbildenden Apparat entfaltet. Trotz vieler Bemühungen ist es bisher auch noch nicht gelungen, aus Thymus, Zirbel und Milz, denen man zweifellos innersekretorische Funktionen zuschreiben muß, wirksame Inkrete herauszuholen. Auch über das Hormon der Nebennierenrinde können wir noch nichts Genaues aussagen. Sicher handelt es sich aber hier um ein sehr lebenswichtiges, vielleicht um das lebenswichtigste Inkret, das der Körper produziert. Mit wässrigen Extrakten läßt sich nach den Mitteilungen verschiedener Forscher eine Verlängerung des Lebens bei Warmblütern, denen die Nebennieren exstirpiert wurden, erzielen. Auch ein entscheidender Einfluß auf den Kohlehydratstoffwechsel kommt dem Nebennierenrindenhormon nach den neuesten Untersuchungen zu.

Von einer anderen Gruppe inkretartiger Stoffe will ich noch kurz berichten: es sind die Gewebshormone, die man wegen ihres universellen Vorkommens den eigentlichen Hormonen gegenüberstellen kann. Hiervon sind in letzter Zeit besonders die körpereigenen, kreislaufwirksamen Substanzen: Histamin, Cholin, Acetylcholin, Kallikrein (Padutin), Nucleotide und Nucleoside untersucht worden. Die letzteren sind in neuester Zeit am genauesten chemisch erforscht worden. In der Skelettmuskulatur und in zellkernreichen Organen findet sich die Adenosintriphosphorsäure; diese kann im Organismus unter bestimmten Bedingungen ebenso wie im *in vitro*-Versuch durch fermentativen oder chemischen Abbau in die Muskeladenylsäure und das Adenosin aufgespalten werden. Ähnlich zusammengesetzte Verbindungen, deren genauer Aufbau noch nicht erforscht ist, finden sich in anderen Organen sowie in den roten Blutkörperchen und auch in der Hefe. Nach den vorliegenden Konstitutionsermittlungen ist die Muskeladenylsäure ein Glykosid aus Ribose und Adenin, das am endständigen Kohlenstoffatom des Zuckerrestes mit einer α -Phosphorsäure verestert ist. Die Bindung der übrigen Phosphorsäurereste in

den Adenosinpolyphosphorsäuren ist im einzelnen noch nicht festgelegt. Alle diese Nucleotide und Nucleoside finden sich in den einzelnen Arzneipräparaten, die zur Behandlung verschiedener Kreislauferkrankungen angewandt werden (Lacarnol, Sarkolyt). Die physiologischen Untersuchungen haben gezeigt, daß diese Nucleoside wahrscheinlich als physiologische Regulatoren der Coronardurchströmung und der Durchblutungsgröße des Skelettmuskels anzusehen sind. Die daraus hergestellten Arzneipräparate haben im pharmakologischen Versuch eine elektive, coronargefäßweiternde Wirkung und werden deshalb in erster Linie zur Behandlung der Angina pectoris und verwandter Krankheitsgebiete empfohlen.

Eine wichtige Rolle spielt in den letzten Jahren das Kreislaufhormon Kallikrein (Padutin), dessen Quellgebiet nach *Frey* und *Kraut* die Bauchspeicheldrüse ist. Von hier gelangt es in aktiver Form in die Blutbahn, wo es dann unter Mitwirkung eines Inaktivators größtenteils inaktiviert wird. Im Harn erscheint es wieder in aktiver Form in relativ großen Mengen. Die chemische Zusammensetzung dieser hochaktiven Substanz ist noch nicht bekannt, doch unterscheidet sie sich prinzipiell von den anderen bekannten kreislaufaktiven Stoffen (Histamin, Cholin, Acetylcholin und Adenylsäure). Pharmakologisch ist sie charakterisiert durch eine gefäßweiternde Wirkung, wodurch der arterielle Strömungswiderstand verringert, die Auswurfmenge des Herzens vermehrt, das Minutenvolumen vergrößert, der Blutstrom beschleunigt und der Blutdruck gesenkt wird.

Eine weitere Gruppe von blutdrucksenkenden Substanzen wurde in verschiedenen Organen, u. a. in der Niere aufgefunden und neuerdings von *Felix* und *Lange* isoliert und bezüglich ihrer physiologischen Wirkung studiert. Wie weit diese Stoffe untereinander verwandt sind und ob ihnen eine physiologische Bedeutung zukommt, steht noch nicht fest; ebensowenig ist über die in letzter Zeit von *Collip* aus

verschiedenen Geweben extrahierten blutdrucksteigernden Substanzen und über das Vagotonin zu sagen. Über die Zusammenhänge aller dieser spezifischen Stoffe und ihre chemische Natur ist man noch in Unkenntnis.

Von den Vitaminen sind besonders vier bisher eingehend studiert worden: die beiden Vitasterine A und D und die wasserlöslichen Faktoren B und C. Der antirachitische Faktor, der nach den Untersuchungen von *Windaus* und seinen Mitarbeitern sowie englischen und amerikanischen Forschern durch Bestrahlung des Ergosterins gewonnen und als wertvolles Arzneimittel der Therapie übergeben werden konnte, liegt jetzt auch in kristallisierter Form vor. Über seine Konstitution läßt sich noch nicht viel aussagen; es ist ein Isomeres des Ergosterins, aus dem es durch intramolekulare Umlagerung entsteht. Somit gehört es zur Gruppe der Sterine, deren Molekülbau wir neuerdings den Phenanthren- bzw. den Chrysen-Ring zugrunde legen. Der A-Faktor, das antixerophthalmische und Wachstums-Vitamin, ist noch wenig erforscht. Hier kommen uns die neueren Untersuchungsergebnisse von *Euler*, *Karrer*, *Kuhn* u. a. entgegen, die es wahrscheinlich machen, daß das A-Vitamin mit den Pflanzenfarbstoffen, insbesondere mit dem Karotin, im engsten Zusammenhang steht. Die früheren Untersuchungen *Eijkmans* über die B-Vitamin-Gruppe, an die sich die Darstellung des kristallisierten Antiberiberi-Vitamins durch *Donath* und *Jansen* anschloß, sind in neuerer Zeit durch *Windaus* fortgesetzt worden. Er konnte aus Hefe, die das Vitamin besonders reichlich enthält, kristallisierte Salze einer Substanz isolieren, die die Wirkung des B-Vitamins in viel stärkerem Maße als die früheren Präparate aus Reiskleie zeigten. Nach der bisherigen Analyse hat *Windaus* für die freie Vitamin-Base eine Bruttoformel, die neben Kohlenstoff und Wasserstoff Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel enthält, aufgestellt. Auch der C-Faktor, das antiskorbutische Vitamin, ist neuerdings an verschiedenen Stellen bearbeitet worden. *Rygh* hat

bei seinen Isolierungen dieses Stoffes aus frischen Früchten einen kristallinen Körper erhalten, der dem Narkotin ähnlich ist und daraus geschlossen, daß das Narkotin, welches er ebenfalls reichlich in unreifen Früchten nachweisen konnte, als Pro-Vitamin des C-Faktors anzusprechen ist. Beim Reifen der Früchte soll es sich durch partielle Entmethylierung in das eigentliche Vitamin umwandeln. *Rygh* hat auf synthetischem Wege dieses partielle entmethylierte Narkotin erhalten und im Meerschweinchen-Versuch eine starke antiskorbutische Wirkung festgestellt. Die experimentellen Angaben *Ryghs* sind in letzter Zeit von anderen Autoren nachgeprüft, doch nicht bestätigt worden. Danach ist es fraglich, ob das C-Vitamin als ein Narkotin-Derivat anzusprechen ist. Viel wahrscheinlicher sind die neuerdings von *Szent-Györgyi* erhobenen Befunde, dem es gelang, aus gleichem pflanzlichen Ausgangsmaterial, aber auch aus Nebennierenrinde einen kristallinen Körper zu erhalten, der eine starke antiskorbutische Wirkung am Meerschweinchen zeigt. Nach der Analyse erwiesen sich die Kristalle als eine Ketouronsäure, die mit der Glukuronsäure isomer ist. Unsere bisherigen Nachprüfungen konnten die interessanten Untersuchungsergebnisse von *Szent-Györgyi* bestätigen.

Die vielseitigen interessanten Forschungsergebnisse über die Fermente und Enzyme haben bisher zu keinem reinen Enzym-Präparat geführt; nur einige rohe Verdauungsfermente, z. B. Pepsin- und Pankreas-Präparate werden heute in der Therapie verwandt. Wohl aber machen wir indirekt von diesen Ferment-Untersuchungen Gebrauch, indem wir diese Stoffe selbst als Hilfsmittel zur Gewinnung von Arzneistoffen heranziehen oder die Methodik ihrer Reindarstellung auf andere Arzneigebiete übertragen. So wurden die verschiedenen Adsorptionsmethoden, die *Willstätter* und seine Schüler für die Fermentreinigung und -Isolierung ausgearbeitet haben, auf die Isolierung von Hormonen und Toxinen übertragen. Solche

Stoffe lassen sich z. B. durch Adsorption an Silikate (Bentonit) oder Tonerde, Eisenoxyde u. a. und darauffolgende Eluierung in reiner hochaktiver Form gewinnen. Auch zu den partiellen Abbau-Versuchen lassen sich die Fermentmethoden mit Erfolg anwenden. Es gelingt z. B. Hormon-Fraktionen durch Aminopolypeptidasen und Proteasen, wie sie von *Waldschmidt-Leitz* hergestellt wurden, zu reineren, ballaststoffreieren Präparaten aufzuspalten. Endlich wurden die Enzyme und Fermente neuerdings auch zu technischen Umbau- und Aufbau-Reaktionen verwandt, z. B. zur Synthese optisch aktiver Alkaloide. Erfolgreich konnten solche Arbeiten bisher beim Ephedrin und verschiedenen seiner Derivate durchgeführt werden. Aus Benzaldehyd läßt sich beim Gärprozeß in wässriger Lösung durch Hefe ein links optisch aktives Phenylacetylcarbinol erhalten, aus dem durch katalytische Reduktion in Gegenwart von Methylamin das Links-Ephedrin entsteht. Dieses ist identisch mit dem Naturprodukt. Auf gleiche Weise gelingt es, auch eine Reihe anderer Derivate aus der Suprarenin- und Ephedrin-Reihe zu erhalten. Je nach den gewählten Bedingungen ist es möglich, die optisch aktive Form oder die Racem-Form herzustellen.

Auch zur Synthese einfacher Zucker wurden solche Gärungsmethoden herangezogen. So ließ sich die einfachste Ketotriose, das Dioxyaceton (Oxantin) aus Glycerin durch Sorbosebakterien erhalten. Dieser interessante Zucker besitzt antiketogene Wirkungen und wird vom Organismus wie andere Kohlehydrate in den Stoffwechsel einbezogen. Versuche beim Diabetiker haben gezeigt, daß dieser Zucker ähnlich wie auch der Sorbit (Sionon) und die karamellisierten Zucker, wie sie in den Glykosanen vorliegen, als Kohlehydrat-Ersatz gegeben werden können.

Auch auf dem Alkaloid- und Glykosid-Gebiet sind große Reihen von Untersuchungen abgeschlossen. Für die Schaffung neuer wertvoller Arzneimittel aus der Alkaloidgruppe steht

besonders die Beantwortung einer Frage im Mittelpunkt des Interesses: Produziert die Pflanze stets das Optimum, einerseits im Hinblick auf die therapeutische Wirksamkeit und andererseits im Hinblick auf Verträglichkeit und Ungiftigkeit? Einheitlich läßt sich diese Frage nicht beantworten; nur einige Beispiele möchte ich herausgreifen.

Beim Kokain haben die bisherigen Untersuchungen ergeben, daß in diesem Alkaloid zwar ein hochwirksames Lokalanästhetikum vorliegt, das aber auch recht giftig ist. Die vielen Arbeiten, die im Laufe der Jahre durchgeführt wurden, um Kokain-Ersatzmittel auf synthetischem Wege zu schaffen, haben ergeben, daß wir heute recht gut ohne Kokain auskommen können. Wir haben eine Reihe mindestens ebenso gut wirkender Infiltrationsanästhetica, Leitungsanästhetica und Schleimhautanästhetica (Novocain und Pantocain), die in niedriger Konzentration das Gleiche leisten wie Kokain und auch ungiftiger sind. Vor allem fehlen diesen synthetischen Produkten die unangenehmen Nebenwirkungen des Kokains, besonders die Erzeugung einer Euphorie und die Gewöhnung, welche Eigenschaften beim Kokain so gefährlich sind. Es fehlt ihnen allerdings auch, wie bisher allen synthetischen Anaesthetics, die vasoconstrictorische Wirkung.

Beim Chinin liegen die Verhältnisse wieder anders. Wir können zwar heute noch nicht in einem synthetischen Produkt alle Teilwirkungen des Chinins, wie die antipyretische Wirkung, die Wirkung auf Malaria-Plasmodien, die schwach analgesierende Wirkung und die Wirkung auf den Stoffwechsel, vereinigen, wohl aber gelingt es heute schon, mit verschiedenen Syntheticis die einzelnen Teilwirkungen des Chinins zu erreichen, in manchen Fällen sogar zu übertreffen. Ich erinnere an das Kairin, Kairolin und Thallin, Chinolin-Abkömmlinge, welche die gleiche febrifuge Wirkung haben wie das Chinin oder die Antipyrin-Derivate, die die antipyretische und analgetische Wirkung des Chinins übertreffen; ich erinnere an die

synthetischen Malaria-Mittel, wie Plasmochin, das zum Teil die Wirkung des Chinins in sich birgt; was die Gameten-Wirkung betrifft, steht es sogar über der Chinin-Wirkung. Auch mit einer Reihe von Akrin-Verbindungen (Atebrin) können wir die antimalarische Wirkung des Chinins, besonders die Wirkung auf die Schizonten, erreichen.

An Hand von anderen Alkaloidstudien, z. B. in der Reihe der Opiumalkaloide, läßt sich eine große Zahl von Beweisen beibringen, die zeigen, daß uns in den Alkaloiden, wie sie als Naturstoffe vorliegen, nicht immer die besten Arzneistoffe für die Therapie zur Verfügung stehen. Es erscheint deshalb reizvoll, an die Isolierung und Reindarstellung solcher Pflanzenbasen auch Versuche zur Veredelung und zur Synthese neuer Körper mit ähnlichem Wirkungsprinzip anzuschließen.

Auf dem Glykosid-Gebiet sind wir noch nicht weit vorgedrungen. Hier müssen wir uns in der Therapie noch ausschließlich mit den natürlichen Glykosiden begnügen, von denen jedoch verschiedene schon in reiner kristalliner Form vorliegen; mit diesen sind bereits grundlegende Arbeiten durchgeführt worden (durch Windaus, Kiliani, Mannich, Jacobson, Stoll u. a.).

Besonders aus der Reihe der Digitaliskörper liegen aus letzter Zeit wichtige Untersuchungsergebnisse vor; nach diesen können wir die Genine (Aglykone) als Sterinlaktone auffassen. Die wichtigsten Zuckerreste, die wohl an der Wirkungsvertiefung und Verankerung des Giftes im Herzventrikel ausschlaggebend sind, gehören zur Gruppe der Pentosen (Desoxypentose, Methyldesoxypentose). In nahem Zusammenhang mit den echten Glykosiden stehen die neuerdings von Wieland und Chen erforschten Krötengifte, denen auch eine elektive Herzwirkung zukommt. In diesen ist nach den neueren Untersuchungen das Aglykon (z. B. Bufotalein) an Stelle von Zucker, ein Suberylarginin, enthalten. Auf dieser Erkenntnis basierend, sind auch bereits Teilsynthesen von Digitaliskörpern ausgeführt worden; praktische Erfolge liegen aber noch nicht vor.

Wenden wir uns schließlich noch einem anderen wichtigen biologischen Gebiet zu, das für die Arzneimittelindustrie große Bedeutung erlangt hat: die Heilsera und Impfstoffe. Aufbauend auf der Erkenntnis *Emil von Behrings*, der zum ersten Male auf die praktische Bedeutung der Antikörperbildung durch systematische Immunisierung an großen Tieren hingewiesen hat, sind im Laufe der letzten 40 Jahre eine große Zahl von Heilsera hergestellt worden, teils antitoxische, teils antibakterielle bzw. bakterizide. Parallel mit diesen Arbeiten ließen die Versuche aufbauend auf der Entdeckung des Tuberkulin alt und neu durch *Robert Koch*, die verschiedensten Toxine und Bakterien-Reinkulturen, teils in völlig abgetöteter Form, teils in ihrer Virulenz stark abgeschwächt, für die aktive Immunisierung zu verwerten. Auf beiden Gebieten hat die Serologie und Bakteriologie wertvolles Material bisher beigetragen in Form der spezifisch wirkenden Heilsera einerseits und der spezifischen Toxine und Vaccinen andererseits. Das letzte größere Ereignis auf diesem Gebiet ist die Diphtherie-Schutzimpfung mit Toxin-Antitoxin-Gemischen, die Tuberkulose-Schutzimpfung nach *Calmette* mit besonders vorbereiteten, abgeschwächten Tuberkelbazillenstämmen und die orale Impfstoff-Darreichung zur aktiven Immunisierung, z. B. gegen Typhus- und Cholera-Infektionen. Es läßt sich nicht verkennen, daß auch auf diesem ganzen Gebiet seit der Entdeckung der ersten Sera und Impfstoffe große Arbeit geleistet wurde. So ist es z. B. gelungen, auf elektroosmotischem Wege und auch durch bestimmte Aussalzungsverfahren Heilsera von gewissen Ballaststoffen zu befreien und aus dem Eiweiß des antikörperhaltigen Serums die Fraktion herauszuschneiden, die besonders reich an Antitoxin ist. Dabei werden gleichzeitig auch jene Eiweißfraktionen, welche die unerwünschten Nebenreaktionen beim Menschen hervorrufen, entfernt und das Präparat wesentlich verträglicher bei gesteigerter Wirksamkeit. Diese Methode führte auch zur Herstellung besonders hochwertiger Antitoxin-

Lösungen und zur Herstellung der sogenannten eiweißarmen Sera, die trotz ihres geringen Eiweißgehaltes ihre hohe antitoxische Wirksamkeit behalten haben.

Auch die Vaccinationsmethoden sind vorteilhaft ausgebaut worden, z. B. durch Auswahl bestimmter Stämme von Bakterien, wobei eine spezifischere und tiefere Wirkung bei der aktiven Immunisierung zu erreichen war (z. B. polyvalente Gonokokkenstämme).

Aber die Hauptarbeit auf dem großen Gebiete der Sera und Impfstoffe ist noch zu leisten; sie fällt in erster Linie dem Chemiker zu. Gerade hier jedoch macht die chemische Bearbeitung außerordentlich große Schwierigkeiten, weil wir über die Chemie der einzelnen Eiweiß-Stoffe noch nicht viel wissen. Drei große Gebiete warten hier auf eine eingehende Bearbeitung, einmal die chemische Reinigung des Serums von den Ballaststoffen, d. h. die weitgehende Befreiung des spezifischen Antitoxin-Anteils. Die Bearbeitung dieses Problems wird uns wahrscheinlich auch zur Beantwortung vieler theoretischer Fragen führen, vor allem der Frage nach den chemischen und physikalischen Eigenschaften der Antitoxine selbst.

Das zweite Arbeitsgebiet liegt auf einer ähnlichen Linie. Hierbei handelt es sich um die Isolierung spezifischer Bakterieneiweißstoffe, also derjenigen Körper, die allein bei der aktiven Immunisierung mit dem Organismus in Reaktion treten. Hier haben uns die grundlegenden Arbeiten von *Heidelberger* gezeigt, daß es gelingt, die Antigene der Pneumokokken als kohlehydratartige Stoffe rein darzustellen, deren Konstitution allerdings noch ungeklärt ist. Neuerdings gelang es uns nun wirtschaftliche Methoden zu finden, um mit genügender Ausbeute aus einer ganzen Anzahl von Bakterien, wie Typhus-Bazillen, Cholera-Vibrionen, Pest-Bazillen, Gonokokken usw., die wirksame Fraktion in eiweißfreier Form zu isolieren, wobei wir uns verschiedener biologischer Aufschlußverfahren bedienten. Auch hier scheint es sich im wesentlichen um

kohlehydratartige Stoffe zu handeln, die keine Eiweißreaktion mehr geben, aber nach *Molisch* positiv reagieren und dadurch in ihrer spezifischen Eigenart charakterisiert werden können, daß sie von einem spezifischen Serum präzipitiert werden.

Auf dem dritten Arbeitsgebiet der Reinigung bzw. Isolierung und Charakterisierung der Bakterientoxine sind wir in den letzten Jahren einen Schritt weitergekommen; einmal bezüglich der pharmakologischen Charakterisierung solcher Toxine. Aus Versuchen von *Schübel* wissen wir, daß z. B. im Botulismus-Toxin ein reines Nervengift vorliegt; besonders die motorische Innervation wird durch relativ kleine Toxindosen völlig gelähmt.

In eigenen Versuchen habe ich seinerzeit im *Straub'schen* Institut gezeigt, daß das Gasbrandtoxin einen ähnlichen Wirkungsmechanismus in den Endphasen seiner Vergiftung zeigt, wie er uns vom Digitalistod bekannt ist, und aus neuester Zeit wissen wir durch Versuche von *Josephthal* über elektrokardiographische Studien bei experimenteller Diphtherietoxin-Vergiftung, daß das Diphtheriegift ein spezifisches Herzgift darstellt. Schon lange hat man versucht, auch auf rein chemischem Wege diese Gifte zu charakterisieren. Vor einiger Zeit haben *Seibert* und *Long* in Chikago gefunden, daß man aus den Kulturbrühen ebenso wie aus dem Tuberkelbazillus selbst ein kristallisiertes Protein isolieren kann, welches alle Eigenschaften des Alt-Tuberkulin besitzt. Wir selbst haben in unseren Laboratorien in ähnlicher Richtung Arbeiten durchgeführt und konnten ein eiweißfreies Tuberkulin erhalten, welchem ebenfalls alle bisher bekannten biologischen Eigenschaften des Alt-Tuberkulin *Koch* zukommen. Nach den jetzt vorliegenden Versuchen scheint es, daß bei diesem Gift der chemische Aufbau ganz ähnlich ist wie z. B. bei dem Thyreoglobulin oder dem Hämoglobin. Hier haben wir als Gesamt-molekül ein Globulin, in das die spezifische Gruppe als sogenannte prosthetische Gruppe eingebaut ist. Im Thyreoglobulin ist die prosthetische Gruppe das Thyroxin, im Häm-

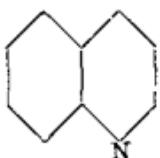
globin das Hämin und im Tuberkulin, wie wir feststellen konnten, ein relativ niedermolekulares, hochaktives Peptid, welches alle Eigenschaften des Tuberkulin besitzt. Ganz ähnliche Verhältnisse finden wir bei dem Gift der Coli-Gruppe (Coli, Typhus, Paratyphus, X 19, Kälberruhr usw.), bei dem wir auch eiweißfreie Gifte aus den Bakterienleibern ebenso wie aus den Kulturbrühen isolieren konnten, mit denen wir — ebenso wie mit den Gesamtbakterien — spezifische Reaktionen, u. a. Fieberreaktionen, erhalten konnten. Diese Ergebnisse haben bis jetzt nur theoretisches Interesse. Sie zeigen aber, daß neben den echten Toxinen, denen sich die Aufmerksamkeit bisher in erster Linie zugewendet hat, noch eine Reihe anderer Giftstoffe von den Bakterien gebildet werden kann, deren Bedeutung für den Ablauf des Infektionsprozesses auch erst dann näher untersucht werden könnte, wenn ihre chemische Isolierung gelungen ist. Auch auf diesem Gebiet wird also der Chemiker dem Biologen und Kliniker vorarbeiten müssen, um die Grundlagen für weitere Erkenntnisse zu schaffen. Es war natürlich nicht möglich, im Rahmen dieses kurzen Referates ein erschöpfendes Bild über die bisherigen Ergebnisse der Naturstoff-Erforschung zu geben. Ich konnte nur die Linien andeuten, auf denen wir uns hier bewegen, glaube aber, gezeigt zu haben, wieviel auf dem Gebiete der modernen Naturstoff-Erforschung in den letzten 20 Jahren gearbeitet wurde und wieviele wertvolle Ergebnisse diese Arbeiten hervorgebracht haben. Viel Neuland liegt aber auch hier noch vor uns. Jedes bescheidene Resultat einzelner Forschungsrichtungen legt wieder neue Fragen vor; noch vieles ist auf jedem einzelnen Gebiet zu bearbeiten, bis sich alles zu einem harmonischen Ganzen zusammenfügen läßt, und wir einen tieferen Einblick in das Geschehen der Naturvorgänge erhalten. Daran mitzuarbeiten ist in erster Linie gemeinsame Aufgabe der Medizin und Naturwissenschaften, zwischen denen die Pharmazie als Grenzgebiet steht.

Chemotherapeutische Akridinpräparate

PROF. DR. PHIL DR. MED h c L. BENDA
Frankfurt a M -Hoechst

Die Chemotherapie bakterieller Infektionen mittels synthetischer Verbindungen wurde inauguriert durch *Morgenroth* und seine Mitarbeiter, die eine Reihe neuer, von *Thron* hergestellter Substanzen untersuchten und u. a. das Aethylhydrocuprein (Optochin) bei Pneumokokken, das Isoamylhydrocuprein (Eukupin) bei Diphtheriebazillen und das Isooktylhydrocuprein (Vuzin) bei Streptokokken und Anaerobiern besonders wirksam fanden. (S. a. *Braun u. Schäfer, Bieling u. a.*)

Diese Präparate sind Homologe des Dihydrochinin, leiten sich also ab vom Chinolin (I).



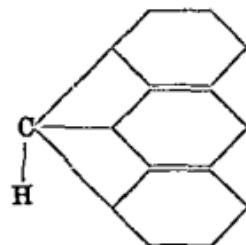
(I)

Weitere Fortschritte brachte die Bearbeitung der Akridinverbindungen.

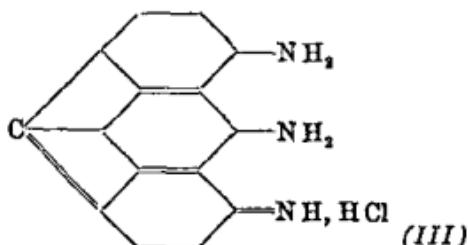
Wenn auch *Tappeiner* und *Jodlbauer* schon vor nahezu 40 Jahren ein Akridinderivat, nämlich das sog. Phosphin, in vitro auf seine protozoentötende Wirkung, und *Mannaberg* das gleiche Präparat am Menschen bei Malaria geprüft hatten, übrigens ohne ein praktisch brauchbares Ergebnis zu erzielen, so begann doch die systematische Bearbeitung des Akridin gebietes erst etwa 15 Jahre später. Es dürfte vielleicht manchen der Leser interessieren zu erfahren, durch welchen Zufall *Paul Ehrlich*, der Begründer der modernen Chemotherapie, und seine Mitarbeiter auf den Gedanken gebracht wurden, dieser Gruppe von Verbindungen besondere Beachtung zu schenken.

Eine Reihe von Forschern hatte sich mit der Erprobung von Triphenylmethanfarbstoffen beschäftigt, Substanzen, die

sich, wie das Fuchsin, das Parafuchsin (*III*), das Methylviolett usw. vom Triphenylmethan (*II*) ableiten,



(II)



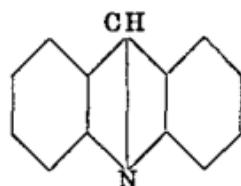
und die gegenüber verschiedenen pathogenen Mikroorganismen *in vitro* und im Tierversuch eine gewisse Wirkung zeigten. *Ehrlich* hatte sie zunächst bei Trypanosomen geprüft. Die Produkte zeigten aber eine erhebliche Giftigkeit und, da hierfür nach der Auffassung *Ehrlichs* ihre starke Basizität verantwortlich war, so veranlaßte der Forscher seine Chemiker nach weniger basischen Fuchsinderivaten zu suchen. Man fand schließlich in dem Dichlorparafuchsin eine Verbindung, die bei geringer Giftigkeit die Muttersubstanz, das Parafuchsin, wie auch alle anderen bisher bekannten Triphenylmethan-Farbstoffe an trypanozider Wirkung weit übertraf. Naganainfizierte Mäuse konnten durch eine einmalige Injektion einer gut verträglichen Dosis mit Sicherheit geheilt werden, ebenso bei oraler Verabreichung mittels der *Marks'schen Mäuseschlundsonde*¹⁾.

Als es sich aber darum handelte, größere Mengen dieses Produktes, das den Namen Tryparosan erhalten hatte, in reinem Zustand zu gewinnen, und man hierfür eine neue Darstellungsmethode anwendete, zeigte das nun besonders schöne und reine Präparat bei weitem nicht die gleich starke Wirkung, wie die ursprüngliche nach dem alten, sogenannten Fuchsinverfahren (Arsensäureschmelze) gewonnene Substanz. Eine nähere Prüfung ergab, daß letztere eine Verunreinigung ent-

¹⁾ Das erste Präparat, mit dem es gelang, eine tödlich infizierte Maus mittels einer einzigen Injektion rezidivlos zu heilen, also eine *Therapia magna sterilans* im Sinne *Ehrlichs* zu verwirklichen, war das *v. Weinbergsche Trypanrot*, ein *Azofarbstoff*.

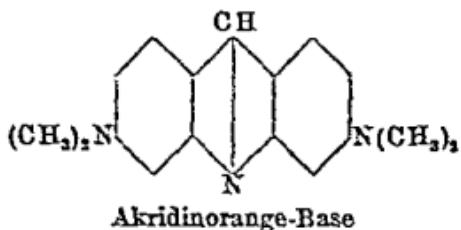
hielt und daß dieser Beimengung die besonders gute Wirkung zuzuschreiben war. Diese mysteriöse Verbindung entpuppte sich dann als ein bis dahin unbekanntes Akridinderivat, das seine Entstehung einer Nebenreaktion, einer sogenannten Orthokondensation verdankte. Nun wußte man, auf welchem Gebiete man weiter suchen müsse, um besonders wirksame Körper zu finden: in der Akridinreihe.

Die Muttersubstanz der Akridinderivate, das Akridin (IV)



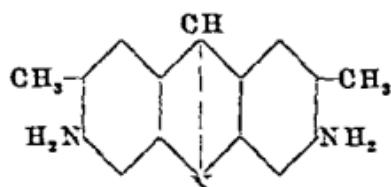
(IV)

selbst, ist im Steinkohlenteer enthalten. Sie kommt wegen ihrer hohen Giftigkeit und der starken lokalen Reizwirkung als Arzneimittel nicht in Frage; auch als Ausgangsmaterial für die Darstellung therapeutisch verwendbarer Akridinderivate ist das Akridin nicht zu gebrauchen. Die aus ihm bisher gewonnenen Umwandlungsprodukte sind für den Mediziner wertlos. Zur Zeit der oben geschilderten Vorgänge waren aber schon zahlreiche Akridinderivate bekannt, die — auf technischem Wege hergestellt — für die Textilindustrie als Farbstoffe Bedeutung besaßen. Die systematische Bearbeitung des Akridingebietes durch die *Ehrlichsche Schule* begann naturgemäß damit, alle diese verhältnismäßig leicht zugänglichen Akridinfarbstoffe, wie Akridingelb, Akridinorange, Diamantphosphin usw., sämtlich amidierte Akridine, auf trypanozide Wirkung zu prüfen, und es fanden sich in der Tat recht wirksame Verbindungen darunter. Leider war aber ihr chemotherapeutischer Index, bekanntlich das Verhältnis von $\frac{dc}{dt} = \frac{\text{Dosis curativa}}{\text{Dosis tolerata}}$ zu ungünstig, um Versuche am Menschen zu rechtfertigen. Namentlich zeigte sich, daß die an den Aminogruppen alkylierten Produkte, wie z. B. das Akridinorange (V) zwar stark wirksam, aber hochtoxisch waren, so daß man sich

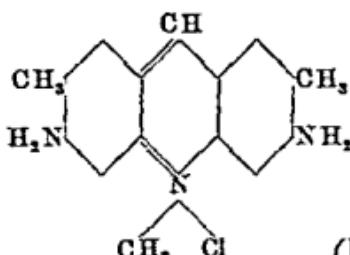


(V)

nunmehr den Präparaten mit primären Aminogruppen (NH_2) zuwandte. Von solchen war damals außer dem erwähnten Phosphin und dem therapeutisch ebenfalls wertlosen Benzo-flavin nur bekannt: das Akridingelb (VI), das sich als weniger giftig, aber auch weit weniger wirksam als Akridinorange erwies. Ferner die entsprechende Akridiniumverbindung (VII)

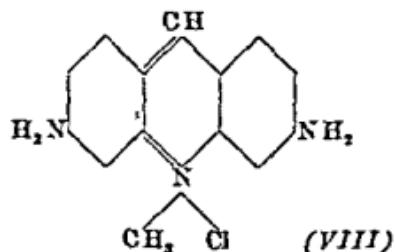


Akridingelb-Base (VI)

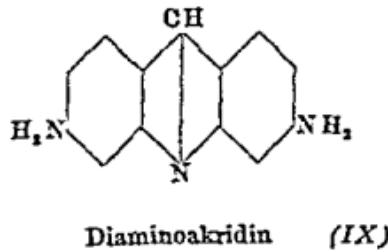


(VII)

von *F. Ullmann*, die schon viel bessere Eigenschaften zeigte. *Ehrlich* gab sich aber auch hiermit nicht zufrieden und, da er auf Grund früherer Untersuchungen den Kernmethylgruppen (von denen das Akridingelb und das Akridiniumgelb zwei aufweisen) einen ungünstigen (dystherapeutischen) Einfluß zuschrieb, mußte ein Weg zur Darstellung der bisher unbekannten kernmethylfreien Verbindung (VIII) gesucht werden, was auch gelang, nachdem nach vielen Fehlschlägen das Zwischenprodukt, 3,6-Diaminoakridin (IX)



(VIII)



Diaminoakridin (IX)

leicht zugänglich gemacht worden war. Die neue Verbindung erhielt wegen ihrer im Tierversuch beobachteten 'guten Trypanosomenwirkung einerseits und ihrer gelben Farbe andererseits den Namen Trypaflavin, den sie auch heute noch trägt, obwohl sie, wie wir jetzt wissen, praktisch als Trypanosomenmittel keine Bedeutung besitzt. Die guten Resultate, die *Ehrlich* bei Nagana damit erzielt hatte, kounnten bei anderen Trypanosomen, namentlich auch bei der Schlafkrankheit des Menschen, nicht bestätigt werden, wenn auch manche Forscher in Afrika durch Kombination von Trypaflavin mit bestimmten Arsenikalien z. B. mit Arsenophenylglycin relativ Günstiges erreichten.

Dagegen gewann das Präparat für den Chemotherapeuten erneut an Interesse, als *Browning*, ein früherer Schüler *Ehrlichs*, und seine Mitarbeiter die starke Wirkung erkannten, die das Trypaflavin auf die Wundinfektionserreger ausübt, und die durch die Gegenwart von Serum nicht, wie dies bei den andern Antiseptics der Fall war, aufgehoben, sondern im Gegenteil noch verstärkt wurde. In England ging man bald dazu über, das Präparat bei infizierten Wunden auch in den Feldlazaretten im Weltkrieg anzuwenden und manche Amputation konnte unterlassen werden dank rechtzeitiger und sachgemäßer Behandlung mit Trypaflavin bzw. Akri-flavin, wie die Engländer das Präparat tauften.

Seit dieser Zeit hat sich das Anwendungsgebiet des Trypaflavin sehr stark erweitert, da das Produkt auf die verschiedensten Krankheitserreger wirkt, und zwar als echtes Chemotherapeuticum auch auf dem Wege der Blutbahn. An zahlreichen Stellen prüfte man seine Wirkung *in vitro*, im Tierversuch und in der Klinik. Es wirkt schon in sehr großer Verdünnung wachstums-hemmend auf alle Wundinfektionserreger (*Kolle, Ritz, Schloßberger*), auch auf die Erreger des malignen Oedems (*E. Fränkel*). *Braun, Neufeld, Schiemann, Fürstenau u. v. a.* bestätigten die außerordentliche Wirkung auf Streptokokken, Gonokokken, Meningokokken, Diphtheriebazillen, *Shiga-Kruse-Bazillen*.

Begünstigt wird die therapeutische Wirkung des Trypaflavin durch sein ungewöhnliches Diffusionsvermögen und den Umstand, daß es die Phagozytose erst in ziemlich hoher Konzentration hemmt. Die Reizlosigkeit seiner verdünnten Lösungen gestattet, es lokal auch bei Erkrankungen der Schleimhäute anzuwenden.

Von neuerdings aufgefundenen Indikationen mag erwähnt werden die Piroplasmose der Hunde und Rinder, die nach Versuchen von *Kikuth* und *Domagk* sowie nach Berichten aus Afrika durch Trypaflavin-Behandlung sehr günstig beeinflußt wird. Es gelang regelmäßig, mit einer Dosis von 10—15 mg pro kg Körpergewicht, mit 1wöchentlicher Zwischenpause 2mal intravenös injiziert, die Parasiten sowohl im akuten wie auch im chronischen Stadium dauernd zum Verschwinden zu bringen und die Tiere vollkommen zu heilen. Da kleinere Dosen im Tierversuch Rezidive nicht verhüten und evtl. Trypaflavin-Resistenz verursachen, werden für die Behandlung in der Praxis möglichst hohe Dosen empfohlen. Bei Theileriosen scheint das Präparat zu versagen, bei Maltafieber Gutes zu leisten.

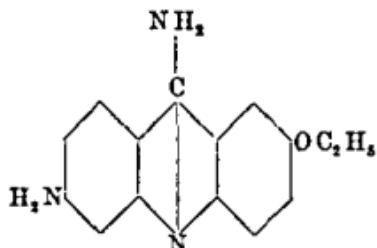
Über die Frage der Wirkungsweise der Chemotherapeutica im allgemeinen, der Akridine im besonderen, ist schon viel gearbeitet worden. Zwischen den beiden extremen Auffassungen: direkte (abtötende und entwicklungshemmende), antiparasitäre Wirkung und indirekte Wirkung durch Verschlechterung des Nährbodens, Mobilisierung der Abwehrkräfte des Organismus, Antikörperbildung durch Abtötung von zunächst wenigen Parasiten, die dann durch die freiwerdenden Antigene ihrerseits die vermehrte Produktion von Antikörpern nach sich zieht, liegen vermittelnde Ansichten, die auf ein Zusammenwirken der ange deuteten Faktoren hinauslaufen. Für das Trypaflavin ist neuerdings durch *Jancsó* die direkte Einwirkung auf Trypanosomen in sehr eleganten Versuchen mit Sicherheit bewiesen worden, nachdem schon vor Jahren *Werbitzki* festgestellt hatte, daß trypaflavinfeste Trypanosomen ihren Blepharoblast verloren haben, was allerdings nach *Gonder* ihre Virulenz kaum beeinträchtigt.

Wie die bakterizide Wirkung des Trypaflavin zustande kommt, ist noch nicht aufgeklärt. Hier wird es sich aber wohl neben der direkten um eine indirekte Einwirkung handeln.

An weiteren Trypaflavin-Zubereitungen bzw. Kombinationen haben klinische Bedeutung erlangt Panflavin, Argoflavin (Trypaflavin + Silber), Choleflavin (Trypaflavin + Papaverin + Podophyllin + Ol. menth. pip.) u. a.

Neben dem Trypaflavin hat besondere Beachtung das Rivanol als chemotherapeutisches Antisepticum gefunden¹⁾.

Dieses Präparat (von *Roser* und *Jensch* hergestellt), das von *Morgenroth*, *Schnitzer* und deren Mitarbeitern neben einer großen Anzahl anderer Hoechster Akridinpräparate, die für chemotherapeutische Wundantiseptis gedacht waren, geprüft wurde, hat die Formel



2-Aethoxy-6,9-diaminoakridin (X)
(als Lactat im Handel)

Es zeichnet sich durch eine besonders gute Tiefenwirkung, geringe lokale Reizwirkung und starke Bakterizidie aus. Für die lokale Anwendung wird Rivanol von manchen Ärzten dem Trypaflavin vorgezogen, und zwar wegen seiner geringeren Färbekraft. Bei der klinischen Prüfung des Rivanol hat sich als wichtige Indikation die Amöbendysenterie ergeben; von synthetischen Produkten, die in der Therapie der Amöbenruhr sich besonders bewährt haben, ist heute neben dem Yatren 105 (dem 7-Jod-8-oxy-chinolin-5-sulfosauren Natron) und dem Spirocid (der 4-Oxy-3-acetylaminophenylarsinsäure) das Rivanol

¹⁾ Das neueste Chemotherapeuticum der Akridinreihe; das von *Mietzsch* und *Mauss* hergestellte Atebrin, wird im Hinblick auf seine besondere Indikation — es ist ein vorzügliches Malariamittel — an anderer Stelle besprochen.

in erster Linie zu nennen. Es ist nach den Untersuchungen von *Wagner*, *Schaumann*, *Peter* und *Urchs* peroral in Einzeldosen von 30—50 mg sehr gut verträglich, wirkt sowohl bei den vegetativen, wie den Dauerformen der Amöbendysenterie und zeigt neben parasitotropen auch spasmolytische und anästhetische Eigenschaften, die ja gerade bei dieser Krankheit von großer Bedeutung sind.

Die systematische Bearbeitung des Gebietes der 9-Aminoakridine, die im Werke Hoechst durchgeführt wurde, hat weitere theoretisch und praktisch wertvolle Ergebnisse gezeitigt. Es sei erwähnt, daß bestimmte Nitroderivate dieser Gruppe ganz außerordentlich starke bakterizide Wirkung aufweisen, ganz besonders gegenüber hämolytischen Streptokokken (*Schnitzer*). Alle diese Verbindungen leiten sich vom 6-Nitro-9-amino-akridin ab. Eine Kombination eines solchen Präparates mit Rivanol ist in der Veterinärpraxis unter dem Namen Entozon als Spezificum gegen Rinderstreptokokken mit besonders gutem Erfolg eingeführt worden.

Die Untersuchungen auf dem Gebiete der Rivanol-Gruppe, womit wir die 9-Aminoakridine bezeichnen wollen, sind noch in vollem Gange.

Betrachten wir das heutige Indikationsgebiet des Trypanoflavin und anderer Akridine, so müssen wir feststellen, daß der ursprüngliche Zweck, in der Akridinreihe ein gutes Schlafkrankheitsmittel zu finden, hier zwar nicht erreicht worden ist, daß aber dennoch diese Arbeiten, wenn auch in ganz anderer Richtung, sich als fruchtbar erwiesen haben. Die Forderung *Ehrlichs*: „Der Chemotherapeut muß chemisch zielen lernen“ ist hier nicht erfüllt worden. Wir hatten auf Trypanosomen gezielt, diese aber nur gestreift, dagegen die Bakterien getroffen. Es geht dem Chemotherapeuten zuweilen ungefähr so wie der jungen Frau, die in der Küche von ihrem Gatten gefragt wird, was sie eben kochte, und die darauf antworten mußte: „Das weiß ich selbst erst dann, wenn es fertig ist“.

Chemische Konstitution und Wirkung von Arzneistoffen

PROF. DR. MED. DR. PHIL. W. SCHULEMANN
Wuppertal-Elberfeld

Auf dem Wege der Empirie, d. h. der Summe von Intuition und Systematik, unterstützt durch vorzügliche Naturbeobachtung haben die Menschen in grauer Vorzeit unter den von der Natur gebotenen Schätzen die ersten Arzneistoffe aufgefunden. Ihre Weiterentwicklung machte dann nur langsame Fortschritte, bis im Laufe des 19. Jahrhunderts die Bedingungen entstanden, die die Synthese von Arzneistoffen in breitestem Ausmaß ermöglichen. Sehr groß ist heute die Zahl der synthetisch dargestellten und praktisch angewendeten Arzneistoffe, noch weit größer die der dargestellten und auf ihre Wirkung geprüften Verbindungen.

Gestützt auf dieses große Tatsachenmaterial ist immer wieder der Versuch gemacht worden, Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung aufzufinden, um — nunmehr fußend auf wissenschaftlicher Erkenntnis — rasche erfolgreiche Weiterentwicklung anzustreben.

Lange Zeit hindurch herrschte die Auffassung, daß direkte Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung bestehen müßten. Für einige Teilgebiete schienen sie deutlich vorhanden zu sein. Erinnern wir uns z. B. an die Ester der Benzoesäure, welche alle mehr oder weniger lokalanaesthetisch wirken, und an die antipyretischen Eigenschaften der Pyrazolon-Gruppe. Aber die nähere Betrachtung zeigt, daß es auch viele lokalanaesthetisch wirkende Verbindungen gibt, die keine Benzoesäureester sind, wie z. B. die Derivate des Phenylurethans, der Phenol- und Arylalkoholreihe u. a. m. Antipyretische Wirkung kommt nicht nur den Derivaten des Pyrazolons, sondern auch dem Chinin, vielen Chinolinverbindungen, Derivaten des Anilins, der Salizylsäure u. a. m. zu.

in erster Linie zu nennen. Es ist nach den Untersuchungen von *Wagner*, *Schaumann*, *Peter* und *Urehs* peroral in Einzeldosen von 30—50 mg sehr gut verträglich, wirkt sowohl bei den vegetativen, wie den Dauerformen der Amöbendysenterie und zeigt neben parasitotropen auch spasmolytische und anästhetische Eigenschaften, die ja gerade bei dieser Krankheit von großer Bedeutung sind.

Die systematische Bearbeitung des Gebietes der 9-Amino-akridine, die im Werke *Hoechst* durchgeführt wurde, hat weitere theoretisch und praktisch wertvolle Ergebnisse gezeitigt. Es sei erwähnt, daß bestimmte Nitroderivate dieser Gruppe ganz außerordentlich starke bakterizide Wirkung aufweisen, ganz besonders gegenüber hämolytischen Streptokokken (*Schnitzcr*). Alle diese Verbindungen leiten sich vom 6-Nitro-9-amino-akridin ab. Eine Kombination eines solchen Präparates mit Rivanol ist in der Veterinärpraxis unter dem Namen *Entozon* als Spezifum gegen Rinderstreptokokken mit besonders gutem Erfolg eingeführt worden.

Die Untersuchungen auf dem Gebiete der Rivanol-Gruppe, womit wir die 9-Aminoakridine bezeichnen wollen, sind noch in vollem Gange.

Betrachten wir das heutige Indikationsgebiet des Trypanoflavin und anderer Akridine, so müssen wir feststellen, daß der ursprüngliche Zweck, in der Akridinreihe ein gutes Schlafkrankheitsmittel zu finden, hier zwar nicht erreicht worden ist, daß aber dennoch diese Arbeiten, wenn auch in ganz anderer Richtung, sich als fruchtbar erwiesen haben. Die Forderung *Ehrlichs*: „Der Chemotherapeut muß chemisch zielen lernen“ ist hier nicht erfüllt worden. Wir hatten auf Trypanosomen gezielt, diese aber nur gestreift, dagegen die Bakterien getroffen. Es geht dem Chemotherapeuten zuweilen ungefähr so wie der jungen Frau, die in der Küche von ihrem Gatten gefragt wird, was sie eben kochte, und die darauf antworten mußte: „Das weiß ich selbst erst dann, wenn es fertig ist“.

Chemische Konstitution und Wirkung von Arzneistoffen

PROF. DR. MED. DR. PHIL. W. SCHULEMANN
Wuppertal-Elberfeld

Auf dem Wege der Empirie, d. h. der Summe von Intuition und Systematik, unterstützt durch vorzügliche Naturbeobachtung haben die Menschen in grauer Vorzeit unter den von der Natur gebotenen Schätzen die ersten Arzneistoffe aufgefunden. Ihre Weiterentwicklung machte dann nur langsame Fortschritte, bis im Laufe des 19. Jahrhunderts die Bedingungen entstanden, die die Synthese von Arzneistoffen in breitestem Ausmaß ermöglichen. Sehr groß ist heute die Zahl der synthetisch dargestellten und praktisch angewendeten Arzneistoffe, noch weit größer die der dargestellten und auf ihre Wirkung geprüften Verbindungen.

Gestützt auf dieses große Tatsachenmaterial ist immer wieder der Versuch gemacht worden, Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung aufzufinden, um — nunmehr fußend auf wissenschaftlicher Erkenntnis — rasche erfolgreiche Weiterentwicklung anzustreben.

Lange Zeit hindurch herrschte die Auffassung, daß direkte Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung bestehen müßten. Für einige Teilgebiete schienen sie deutlich vorhanden zu sein. Erinnern wir uns z. B. an die Ester der Benzoesäure, welche alle mehr oder weniger lokalästhesierend wirken, und an die antipyretischen Eigenschaften der Pyrazolon-Gruppe. Aber die nähere Betrachtung zeigt, daß es auch viele lokalästhesierend wirkende Verbindungen gibt, die keine Benzoesäureester sind, wie z. B. die Derivate des Phenylurethans, der Phenol- und Arylalkoholreihe u. a. m. Antipyretische Wirkung kommt nicht nur den Derivaten des Pyrazolons, sondern auch dem Chinin, vielen Chinolinverbindungen, Derivaten des Anilins, der Salizylsäure u. a. m. zu.

Gegenüber diesen Tatsachen erscheint es zunächst unmöglich, verwandtschaftliche Beziehungen zwischen der chemischen Konstitution von Verbindungen so verschiedenen Aufbaues aufzufinden, welche die ähnliche biologische Wirkung erklären könnten.

Die Arbeiten der letzten Jahrzehnte aber haben gezeigt, welche Bedeutung den physikalischen bzw. physikochemischen Eigenschaften der Substanzen für ihr biologisches Verhalten zukommt.

Grundlegend ist zunächst in der Reihe der Hypnotica und Narkotica die 1899/1901 von *H. H. Meyer* und *Overton* aufgestellte Lipoidtheorie geworden und geblieben. Sie zeigte, daß bestimmd für die quantitative Verteilung und Wirkung eines lipoidlöslichen Stoffes bei gleichzeitig genügender Wasserlöslichkeit das Verhältnis seiner beiden Lösungsaaffinitäten zu Lipoid und Wasser sein muß, d. i. der Teilungsquotient $\frac{\text{Lipoidlöslichkeit}}{\text{Wasserlöslichkeit}}$ (*H. H. Meyer* in *Meyer-Gottlieb* „*Experim. Pharmakologie*“, 7. Aufl. 1925, p. 132).

Die Lipoidtheorie sieht also in bestimmten physikochemischen Eigenschaften die gemeinsame Grundursache für die hypnotisch-narkotischen Wirkungen chemisch so heterogen aufgebauter Verbindungen, wie z. B. Stickoxydul, Acetylen, Chloroform, Alkohol, substituierte Säureamide und Harnstoffe (Neuronal, Adalin), Derivate des Hydantoin, der Barbitursäure usw.

Änderung des chemischen Aufbaues in gewissen Grenzen — die gleichzeitige Löslichkeit in Lipoid und Wasser darf nie vollständig verloren gehen — führt also zwar auf den verschiedensten Wegen doch zu Verbindungen mit ähnlicher, wenn auch quantitativ und qualitativ weitgehend nuancierbarer, hypnotischer bzw. narkotischer Wirkung.

Nach anderen gemeinsamen Gesichtspunkten für die Erklärung pharmakologisch und chemotherapeutisch gleichartiger

Wirkungen verschiedenartig aufgebauter Verbindungen suchte man auch auf anderen Gebieten.

Schon 1885 hatte *Ehrlich* in seiner „farbanalytischen Studie“ „Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus“ gezeigt, von welchem Einfluß auf Verteilung und Wirkung einer Substanz ihre „Körnung“ sein kann und außerdem dargelegt, wie sich Änderungen der „Körnung“ auch die „Grenzmembranen“ in ihrem Verhalten anpassen können. Nach dem heutigen Sprachgebrauch hat also *Ehrlich* bereits damals auf den maßgebenden Einfluß des Dispersitätsgrades einer Substanz und auf funktionelle Änderungen der Zellpermeabilität als Grundlage der Stoffverteilung hingewiesen.

Dann aber drängte *Ehrlich* selbst durch seine — praktische Erfolge bildhaft erläuternde — Seitenkettentheorie die physikalische Betrachtungsweise zugunsten rein chemischen Denkens (Wirkung spezifischer, reaktionsfähiger Atomgruppen) vorübergehend in den Hintergrund.

Der Ausbau der physikalischen Chemie brachte rasch weitere Förderung und lehrte neue Gesetzmäßigkeiten kennen. Eine Fülle von Arbeiten zeigte in den späteren Jahren die Bedeutung der Grenzflächenerscheinungen, des Lösungszustandes usw. für biologisches Geschehen.

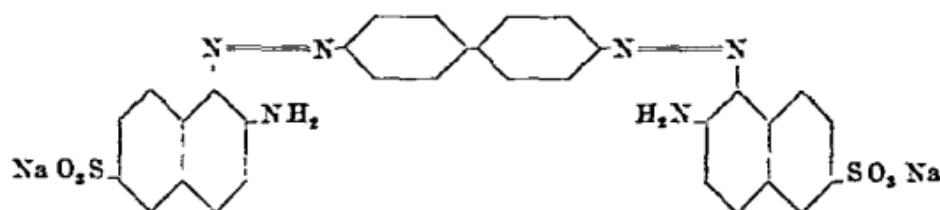
Für die Säurefarbstoffe und viele Kolloide konnten *Evans* und *Schulemann* zeigen, daß bei diesen direkte Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und biologischem Verhalten nicht bestehen.

Maßgebend für die Verteilung dieser Substanzen im Tierkörper ist das physiko-chemische Verhalten ihrer Lösungen, für ihre Speicherung einerseits die elektrische Ladung und andererseits der Funktionszustand bestimmter Zellen des Organismus.

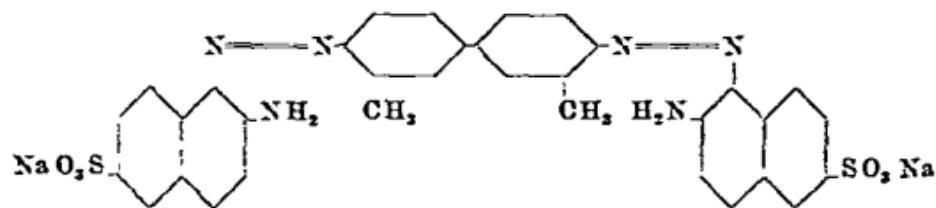
Bedingt durch die Molekulargröße und durch die chemische Konstitution einer Verbindung sind deren physiko-chemische Eigenschaften und von diesen hängt das Verhalten im Organismus ab.

Es wird nun auch verständlich, wie scheinbar so indifferente Gruppen wie Alkylreste grundsätzliche Änderungen des biologischen Verhaltens verursachen können.

So ist z. B. die Verbindung



wasserunlöslich, textilfärberisch wertlos und bleibt im Tierkörper am Injektionsort liegen, während die durch zwei CH₃-Gruppen substituierte homologe Verbindung



ein guter substantiver Baumwollfarbstoff ist, der im Tierkörper gut vitalfärbend wirkt.

Verschiebung der SO₃Na-Gruppe in diesem Farbstoff von C₆ nach C₅ gibt wieder eine Verbindung, die wie die zuerst genannte nach jeder Richtung hin unbrauchbar ist.

Ähnlich bemerkenswerte Unterschiede — hier in therapeutischer Richtung — finden wir bei den Verbindungen der Germaninreihe, die den Säurefarbstoffen in ihren physiko-chemischen Eigenschaften nahestehen (Roehl, Arch. f. Schiffs- und Tropenkr., Bd. 30, Beih. 1, p. 103, 1926). Während Germanin einen sehr hohen therapeutischen Index hat (1:360), sinkt dieser Index bei Entfernung von z. B. nur einer CH₃-Gruppe aus dem Brückenglied auf unter 1:10 ab (Fischl u. Schloßberger, Handb. d. Chemotherapie, Bd. I, p. 343 ff., 1932).

Aber nicht nur die Änderungen von Molekulargröße und -bau selbst sind ausschlaggebend für die biologischen Eigenschaften einer Verbindung. Von größtem Einfluß sind auch die Bedingungen, unter denen eine Substanz zur Wirkung kommt. Konzentration, Alter, Temperatur der Lösungen, Gehalt an Elektrolyten, Kolloiden usw. können die physikochemischen und damit die biologischen Eigenschaften einer Substanz weitgehend beeinflussen, ohne daß eine Änderung des Molekülaufbaues selbst erfolgt (*Schulemann*, Bioch. Zschr., Bd. 80, p. 38 ff., 1917).

Für viele biologische bzw. therapeutische Erscheinungen ist hier die Erklärung zu suchen, z. B. für die Auswirkungen von Kombinationen. So berichtet z. B. *Herzfeld* (Anatom. Hefte, I. Abt. 164, Heft [54. Bd. H. 3] p. 451 ff.), daß basische Farbstoffe von ihren sonst gewohnten Verteilungsorten abgelenkt werden durch vorherige Injektion von sauren Farbstoffen. *R. Keller* und seine Mitarbeiter (vergl. *R. Keller*, „Die Elektrizität in der Zelle“, III. Aufl. 1932) konnten zeigen, welche Rolle der elektrischen Umladung von Substanzpartikeln für die Verteilung und Speicherung zukommt. *v. Jancsó* (Z. exp. Med., B. 64, p. 256, 1929) erwies, daß bei Durchströmung überlebender Leber die Ultramikronen und Submikronen kolloider Metallösungen nur dann granulär gespeichert werden, wenn den Metallkolloidlösungen Blutserum oder eine Lösung von Gelatine oder von Eier-Eiweiß zugesetzt wird.

Diese und viele andere Versuche zeigen, von welcher Bedeutung das „Milieu“ ist bzw. sein kann, in dem eine Substanz zur Wirkung kommt, gleichgültig, ob es sich um einen Nährstoff oder Arzneistoff handelt.

Aber noch ein drittes Moment muß in den Kreis der Betrachtung gezogen werden: Der Funktionszustand des Gesamtorganismus oder des Erfolgorganes bzw. der Zelle des Organismus oder des Parasiten, auf welche die Substanz einwirkt.

Hierher gehört z. B. die von *Reid Hunt* gefundene Tatsache, daß Tiere, deren Stoffwechsel durch Vermehrung der wirksamen Stoffe der

Schilddrüse gesteigert ist, besonders unempfindlich gegen die Vergiftung mit Acetonitril werden. *Weese* und *Weilguny* (Verh. Dtsch. Pharmakol. Ges., 1932, S. 89) wiesen nach, daß fiebernde Warmblüter größere Dosen von Digitalisglykosiden vertragen als normale. Zentralerregende Substanzen zeigen bei gleichen Dosen wechselnd starke Wirkung entsprechend dem jeweils bestehenden Erregungszustand des animalen Nervensystems. Die Stärke der Wirkung von Vagus- und Sympathicusgiften hängt ab von dem „Tonus“, in welchem sich die Teile des autonomen Nervensystems gerade befinden.

R. Freund (Virchows Archiv, Bd. 286, p. 526, 1932) zeigte am Beispiel der Leber, daß der Grad der Durchblutung eines Organes ein Faktor für die Art und den Grad der Ablagerung von Fremdstoffen in ihm sein kann. Bei manchen seiner Versuche aber scheint die Deutung nicht ausgeschlossen, daß auch eine direkte Beeinflussung des Funktionszustandes der Speicherzellen selbst durch die Vorbehandlung stattgefunden hat.

Die Zellen selbst stehen ja den auf sie einwirkenden Substanzen keineswegs passiv gegenüber. Ihr Bau kann von vornherein so sein, daß gewisse Substanzen unter normalen Bedingungen weder an ihren Grenzflächen adsorbiert werden, noch in sie eindringen, z. B. Säurefarbstoffe in Nervenzellen. In gewissen Grenzen aber können die Zellen ihren Funktionszustand ändern — sei es im physiologischen Geschehen, sei es durch äußere Beeinflussung — und empfindlicher oder resisternter gegen an sie herantretende Substanzen werden.

Am klarsten zeigt sich dieses Moment der Funktionsänderung bei der 1907 von *Franke* und *Roehl* entdeckten Arzneifestigkeit von Parasiten (cf. *Ehrlich*, Berl. Klin. Woch., Nr. 11, S. 310, 1907).

Ehrlich hat die Vermutung ausgesprochen, daß die erworbene Arzneifestigkeit von Trypanosomen ihre Ursache in einer Verminderung der Avidität spezifischer Chemozeptoren habe. *Warrington York*, *Murgatroyd* und *Hawking* („Studies in Chemotherapy“, Annals of trop. medic. and parasitology, Vol. XXV, p. 351, 1931) haben experimentell bewiesen, daß

diese Aviditätsverminderung verursacht ist durch eine Ver-
minderung der Permeabilität für Arsenverbindungen. *v. Janesó*
(Z. f. Bakteriol., Abt. I, Bd. 123, p. 129 [1931] ib. Bd. 124,
p. 167 [1932]; Klin. Woch., 1932, p. 689, p. 1305) erbrachte
mit anderen Methoden für Substanzen der Akridin-, Pyronin-
und Styrylchinolinreihe gleichfalls den Nachweis, daß die Arz-
neifestigkeit von Nagana-Trypanosomen auf eine künstlich er-
zeugte Impermeabilität der Parasitenzelle — also auf eine
Funktionsänderung — zurückzuführen ist. Wir gehen wohl in
der Vermutung nicht fehl, daß auch die Wirkung vieler Hor-
mone und Vitamine, die in so außerordentlich geringen Mengen
tiefgreifenden Einfluß auf den Stoffwechsel einzelner Organe
oder Zellsysteme haben, nicht anders erklärt werden kann, als
daß sie Funktionsänderungen an Zellen oder Zellsystemen her-
vorrufen.

Zusammenfassend dürfen wir heute also wohl sagen,
daß direkte Beziehungen zwischen chemischer Konstitution
und biologischem Verhalten von Verbindungen nicht zu be-
stehen scheinen.

Abhängig von der Molekülgröße und der Konstitution
sind die physiko-chemischen Eigenschaften einer Substanz.
Diese sind Ursache von Verteilung und Speicherung und damit
mittelbar auch der Wirkung von Verbindungen. So wird es
verständlich, daß in der chemischen Konstitution ähnliche
Verbindungen sich biologisch ganz verschieden, und um-
gekehrt ganz verschieden aufgebaute Verbindungen sich bio-
logisch ähnlich verhalten können — je nach der Variation,
welche die Änderung der chemischen Konstitution den physiko-
chemischen Eigenschaften gibt.

Das biologische Verhalten einer Substanz aber wird nicht
nur durch Änderung der chemischen Konstitution und damit
der physiko-chemischen Eigenschaften, sondern auch ohne
Änderung des Molekülaufbaues durch Einflüsse des „Milieus“
auf die physiko-chemischen Eigenschaften der Substanz variiert.

Als dritter Faktor ist der Funktionszustand des Organismus, des Organs oder der Zelle selbst maßgebend, auf die eine Substanz zur Einwirkung kommt, sei es, daß dieser sich aktiv oder passiv ändert oder geändert wird.

Für eine Deutung der Wirkung der an den Zellgrenzflächen angehäuften oder in Protoplasma oder Kern eingedrungenen Stoffe selbst aber fehlen noch fast alle Anhaltspunkte. In vielen Fällen müssen wir vermuten, daß sie auf chemische Reaktionen zurückzuführen sind, besonders dann, wenn die Substanzen im Stoffwechsel verändert werden.

Nach dem heutigen Stand der Forschung scheint es zwar möglich, das Problem „Konstitution und Wirkung“ von einheitlicheren Gesichtspunkten aus zu betrachten und damit neue Richtlinien für die Weiterarbeit zu gewinnen, aber unsere Kenntnisse sind noch sehr lückenhaft und viel Einzelarbeit ist noch zu leisten, um klarere Erkenntnis zu gewinnen. Frei von empirischer Arbeitsweise können wir uns auch heute noch nicht machen, zumal auch unsere Kenntnis von den Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und physikalischen Eigenschaften nur eine recht beschränkte ist.

Wege und Ziele der Vitaminforschung

PROF. DR. FRITZ LAQUER

Aus dem Physiologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG., Werk Elberfeld

A. Gehören Vitamine und Hormone zusammen?

Unter den auch therapeutisch wichtigen Stoffen, die uns die neue physiologische Chemie zugängig gemacht hat, nehmen die Vitamine und Hormone die erste Stelle ein. Häufig werden sie zusammen genannt. Hierdurch wird die Vorstellung erweckt, als seien sie ihrer ganzen Natur nach eng verwandt. In ihren chemischen Eigenschaften, soweit wir sie kennen, sind sie jedoch grundverschieden. Schon von den bisher bekannten Vitaminen gehört jedes einzelne einer anderen Körperklasse an, und das gleiche gilt für die Hormone. Aber auch hinsichtlich ihres biologischen Verhaltens, ihres vermutlichen Angriffspunktes im Organismus bestehen keine Beziehungen zwischen diesen beiden Gruppen biologisch aktiver Substanzen. Man hat mitunter behauptet, daß die mit der Nahrung zugeführten Vitamine die Bausteine lieferten, aus denen der Körper seine Hormone bildet. So verlockend diese Vorstellung auf den ersten Blick erscheint, ein experimenteller Beweis hierfür ist noch niemals erbracht worden. Nur zwischen dem antirachitischen Vitamin und dem Nebenschilddrüsenhormon scheinen etwas engere Beziehungen zu bestehen, die aber noch einer genaueren Klärung harren, ebenso wie die zwischen der als Vitamin C wirkenden Hexuronsäure und der Nebennierenrinde, in der sie ebenfalls nachgewiesen wurde, vermuteten Zusammenhänge sowie die noch sehr unbestimmten Beziehungen, die sich vom Vitamin E zu den Sexualhormonen erstrecken sollen.

Aber trotzdem bestehen wichtige Verbindungswege, die von der Vitamin-Forschung zu den Hormonen verlaufen. Sie liegen in erster Linie auf methodischem Gebiet. Es handelt sich in beiden Fällen um Substanzen, die in sehr kleinen Mengen

wirkend für den normalen Ablauf des Lebens wichtig oder unentbehrlich sind. Sie werden zunächst aus ihren Wirkungen, die sie entfalten, oder noch häufiger aus den Folgen ihres Fehlens, den sogenannten Mangelkrankheiten oder Ausfallserscheinungen erschlossen. Sie können daher, solange man über ihre chemische Natur nichts oder nur sehr wenig weiß, nicht mit den üblichen Methoden des Chemikers, sondern nur auf biologischem Wege erkannt und bestimmt werden. Die Möglichkeit ihrer quantitativen Messung, das sogenannte „Testobjekt“, ist nicht nur für die Erforschung, sondern auch für eine wissenschaftlich begründete therapeutische Anwendung von Vitaminen sowohl wie von Hormonen gleich bedeutungsvoll.

Wenn wir im folgenden die allgemeinen Grundlagen, die für ein erfolgreiches Arbeiten auf diesem Gebiet notwendig sind, kurz besprechen wollen, so muß auf alle Literaturangaben verzichtet werden. Eine eingehende Schilderung der hier erschienenen Arbeiten müßte den Rahmen jeder Darstellung sprengen. Ich möchte mich daher auf die Wiedergabe einiger in den letzten Jahren in einem größeren Laboratorium gemachten Erfahrungen beschränken.

B. Die Erforschung der Vitamine

I. Die allgemeinen Grundlagen

Die Entdeckung von Vitaminen und Hormonen geht meist von Ärzten aus, die mit intuitivem Blick den Zusammenhang zwischen einem oft von ihnen selbst erstmalig beschriebenen Krankheitsbild und dem Fehlen lebenswichtiger Stoffe erkannt haben. Die weitere Erforschung dieser sei es im Organismus selbst gebildeten, sei es mit der Nahrung zugeführten Substanzen wird aber erst dann möglich, wenn es gelingt, die gleichen oder zum mindesten sehr ähnliche Erkrankungen bei Tieren hervorzurufen. Aber sowohl die bei Vitaminentzug auftretenden Mangelkrankheiten, wie die beim Fehlen von Hormonen sichtbar werdenden Ausfallserscheinungen der Tiere

sind nur dann zu verwerten, wenn sie sich auch zu einem quantitativen Verfahren ausgestalten lassen. Die hierfür notwendigen Serienversuche verlangen große Mengen kleiner Laboratoriumstiere — man nimmt meist Ratten, Mäuse oder Meerschweinchen — und eine entsprechende Organisation. Besonders wenn an einer Stelle mehrere Vitamine und Hormone nebeneinander bearbeitet werden sollen, ist eine eigene Tierzucht unbedingt notwendig, die ein gleichmäßiges und gesundes Tiermaterial liefert. Daneben dürfen die übrigen für eine Versorgung von Tausenden von Tieren unentbehrlichen Hilfsmittel nicht fehlen.

Wem die hierfür notwendigen Einrichtungen nicht zur Verfügung stehen, der soll an die Bearbeitung derartiger Probleme nicht herangehen. Es könnten viele Umwege und Widersprüche in der Hormon- und Vitamin-Literatur vermieden werden, wenn man nur solche Ergebnisse veröffentlichte, die an einer genügend großen Anzahl von Tieren gewonnen worden sind. So hat sich beispielsweise herausgestellt, daß eine genaue Wertbestimmung von Präparaten der Vitamine A und D für jede Dosis zehn Ratten verlangt. Bei der Auswertung des Hypophysenvorderlappenhormons Prolan kommt man im allgemeinen mit fünf jungen weiblichen Ratten für jede einzelne Tagesgabe aus. Eine geringere Tierzahl ist nur bei Tastversuchen erlaubt, wenn man in erster Annäherung sich über die Größenordnung der biologischen Wirksamkeit unterrichten will. Für jede genaue Standardisierung verlangt auch ein gutes Testobjekt die Behandlung von mindestens fünf Tieren mit der gleichen Dosis.

Aber auch dann noch weichen die Ergebnisse zu verschiedenen Zeiten oft erheblich voneinander ab. Diese mitunter als „jahreszeitliche“ Schwankungen bezeichneten Änderungen der Empfindlichkeit sind vielfach nur schwer zu erklären. Bei der Auswertung des Vigantol haben wir einmal ein ganzes Jahr lang bei sämtlichen Tieren das gleiche

Futtergemisch aus einem großen Vorrat verfüttert. Trotzdem konnten gewisse Abweichungen nicht verhindert werden. Es ist daher bei wichtigen Auswertungen notwendig, ein „Standardpräparat“ mitlaufen zu lassen, an dem man Veränderungen in der „Höhenlage“ des ganzen Versuchs erkennen kann. Ein Chemiker, der es gewohnt ist, seine Substanzen auf die vierte Dezimale abzuwiegen, findet sich mit einer Genauigkeit, die auch im günstigsten Falle die Werte von $\pm 25\%$ kaum unterschreitet, nur schwer ab. Dafür sind aber sehr viele Testobjekte weit empfindlicher als die beste analytische Waage. So können, um nur ein Beispiel zu nennen, bei der Auswertung des antirachitischen Vitamins im Rattenversuch $0,01\gamma$ ($1\gamma = \frac{1}{1000}\text{ mg}$) noch gut erkannt und bestimmt werden.

Man hat versucht, diese statistischen Auswertungen nach den Regeln der Wahrscheinlichkeitslehre zu behandeln, und hierbei in einzelnen Fällen zweifelsohne eine tiefere Einsicht in das eigene Handwerkszeug und eine Verbesserung der Genauigkeit erreicht. Das wichtigste Ergebnis stand aber schon vorher fest und lautet, ganz unmathematisch ausgedrückt, daß jede Standardisierung um so genauer wird, je mehr Tiere man benutzt.

Der Tierversuch ist nicht Selbstzweck. Er ist ein leider oft recht umständlicher und kostspieliger Weg, um das Endziel, die Gewinnung der wirksamen Körper in reiner Form zu erreichen. Mitunter gibt es neben den biologischen Verfahren auch noch chemische Methoden, beispielsweise Farbreaktionen, zum Nachweis der gesuchten Substanzen. Dies erleichtert und beschleunigt die Reindarstellung. Es ist sicher kein Zufall, daß Adrenalin und Thyroxin, die sich auch in großer Verdünnung noch mit chemischen Mitteln erkennen lassen, die ersten Hormone gewesen sind, die als reine Körper isoliert und später auch synthetisch gewonnen werden konnten.

Aber selbst wenn die Reindarstellung von Hormonen und Vitaminen es erlaubt, die Einstellung von Präparaten nach

biologischen Einheiten zu verlassen und zu einer gewichtsmäßigen Dosierung überzugehen, kann für viele Untersuchungen der biologische Versuch nicht entbehrlich werden, besonders wenn stark verdünnte oder mit beliebigen Zusätzen versehene Präparate vorliegen.

Wenn nun im folgenden in großen Zügen, wobei viele wichtige Einzelheiten unerörtert bleiben müssen, gezeigt werden soll, bis zu welchen Punkten die Forschung auf diesem Gebiete vorangeschritten ist, so wollen wir uns auf die Vitamine beschränken. Die Verhältnisse liegen aber, unter methodischen Gesichtspunkten betrachtet, bei den Hormonen ganz ähnlich.

II. Der gegenwärtige Stand der Vitamin-Forschung

1) VITAMIN A

Beim Vitamin A besitzen wir ein gut ausgearbeitetes Nachweisverfahren an jungen Ratten, deren Wachstum nach wenigen Wochen stillsteht, wenn sie vitamin-A-frei ernährt werden. Schließlich sterben die Tiere, wobei vielfach eine Xerophthalmie auftritt. Sehr reich an Vitamin A ist der schon lange bekannte und benutzte Lebertran. Die kleinste Tagesdosis, die unter den bei uns üblichen Versuchsbedingungen an Ratten, deren Gewicht gerade zum Stehen gekommen ist, wieder volles Wachstum hervorruft, liegt etwa bei 2—4 mg Lebertran. Von guter Butter braucht man hierzu das 100—200fache.

Daneben liefert die kolorimetrische Blaufärbung aller vitamin-A-haltigen Präparate mit einer Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform recht gute Anhaltspunkte für den Vitamin-A-Gehalt, wenn auch diese Farbreaktion nicht streng spezifisch ist. So ist es verhältnismäßig schnell gelungen, aus Fischtran mit Anreicherungsverfahren, die auch im Großbetrieb gut durchführbar sind, vitamin-A-haltige Fraktionen zu gewinnen, bei denen eine Ratteneinheit schon in 1 γ

enthalten ist. Dieses bedeutet eine etwa 2-4000fache Verstärkung gegenüber Lebertran. In der gleichen Größenordnung ist auch das schön kristallisierende Carotin im Rattenversuch wirksam. Es ist aber nach allgemeiner Auffassung nicht das eigentliche Vitamin, sondern wird im Organismus, sehr wahrscheinlich in der Leber, in Vitamin A umgewandelt, das daher dem Carotin chemisch nahe verwandt sein dürfte. Man kann annehmen, daß seine Reindarstellung nicht mehr lange auf sich warten lassen wird. Die dann zu Ende zu führende Konstitutionsermittlung wird schnell erkennen lassen, ob eine Synthese des Vitamins A zur Zeit möglich und praktisch aussichtsvoll erscheint. Das letztere ist kaum zu erwarten.

2) VITAMIN D

Wenn es auch noch nicht entschieden ist, ob das im Lebertran vorhandene zweite fettlösliche Vitamin identisch ist mit dem bei der ultravioletten Bestrahlung des Ergosterins entstehenden antirachitischen Vitamin, so besteht doch kein Zweifel darüber, daß bestrahltes Ergosterin nicht nur im Tierversuch, sondern auch bei kranken Menschen die Rachitis in außerordentlich kleinen Dosen verhüten und heilen kann. Als man, gestützt auf ein zuverlässiges und in der Folgezeit noch weiter ausgearbeitetes Bestimmungsverfahren, an jungen Ratten gefunden hatte, daß bei der Bestrahlung von Ergosterin Präparate entstehen, die im Tierversuch schon mit etwa 0,1 γ wirksam sind, und die dann auch bald im großen Maßstab technisch hergestellt und therapeutisch angewandt werden konnten, da glaubte man, daß die Reindarstellung des antirachitischen Vitamins in kristallinischer Form bald gelingen werde. Trotz der zahlreichen Versuche ausgezeichneter Chemiker hat es mehrere Jahre gedauert, bis man aus dem bei der Bestrahlung des Ergosterins entstehenden Gemisch zunächst das reine antirachitische Vitamin und kurz darauf noch eine Reihe anderer Umwandlungsprodukte abtrennen

und als Kristalle gewinnen konnte. Man ist daher oft erstaunt, mit welcher Leichtigkeit in wissenschaftlichen Veröffentlichungen Angaben über die Reindarstellung biologisch-aktiver Stoffe, die meist unter viel ungünstigeren Bedingungen zugängig sind, als das in reinen Fettlösungsmitteln bestrahlte kristallinische Ergosterin und seine Umwandlungsprodukte, aufgestellt werden, die dann natürlich einer kritischen Nachprüfung nicht standhalten können.

Ebenso erstaunlich sind die Behauptungen, es gäbe amorphe Präparate, die noch wirksamer seien als das kristallisierte Vitamin D, wobei die Ergebnisse von Tierversuchen miteinander verglichen werden, die an ganz verschiedenen Stellen, zu ganz verschiedenen Zeiten und oft auch mit ganz anderen Methoden durchgeführt worden sind. Wie bereits erwähnt, sind solche Messungen nur dann zuverlässig, wenn sie sich auf ein sehr großes Tiermaterial stützen, vor allem aber müssen die zu vergleichenden Präparate, in diesem Fall das reine Vitamin D und das angeblich wirksamere nicht kristallinische Produkt im gleichen Versuch unmittelbar miteinander verglichen werden. Solange das nicht geschehen ist, sind alle Veröffentlichungen über amorphe, angeblich hochwirksame antirachitische Präparate völlig wertlos.

Man findet vielfach die Angabe, daß außer Lebertran, bei dem nach unseren Untersuchungen etwa in 10—20 mg 1 Ratteneinheit enthalten ist — er enthält demnach nur etwa den 500 000. Teil der antirachitischen Wirksamkeit des reinen Vitamins D — auch Butter und Eier antirachitisch wirksam seien. Wir haben kürzlich im Rattenversuch den Vitamin-D-Gehalt einer gewöhnlichen Butter bestimmt und gefunden, daß selbst 1 g täglich noch keine Wirkung entfaltet. In der Butter sind also weniger als 0,000 002 % reines Vitamin D enthalten. Sie ist mindestens 100mal schwächer antirachitisch wirksam als Lebertran. Zur Verhütung und Heilung einer Rachitis müßte also ein Kind, vorausgesetzt,

daß sich in der Butter überhaupt Vitamin D nachweisen läßt, mehr als 1,5 kg täglich verzehren. Man sieht an diesem etwas grotesken Beispiel, daß man mit allgemeinen Angaben über den Vitamin-Reichtum von Nahrungsmitteln nicht viel anfangen kann. Maß und Zahl sind auch hier die entscheidenden Grundlagen wissenschaftlicher Betrachtungen.

Auch eine weitere Frage, die lange Zeit unbeantwortet blieb, konnte nur mit Hilfe einwandfreier Tierversuche entschieden werden. Sehr bald nach der Entdeckung des bestrahlten Ergosterins hatte man festgestellt, daß die Bestrahlungsprodukte in hohen Dosen giftig wirken. Sie zeitigen u. a. charakteristische Verkalkungen, die schließlich den Tod der Versuchstiere herbeiführen können. Da man lange Zeit nicht wußte, ob diese durch Überdosierung verursachten Nebenerscheinungen dem antirachitischen Vitamin selbst oder unvermeidbaren, vielleicht auch vermeidbaren Nebenprodukten zukommen, hat man für die Ursache des ganzen Symptomenkomplexes den Ausdruck „Calcinose-Faktor“ gewählt. Auch dieses verkalkende Prinzip läßt sich im Tierversuch, wobei man zweckmäßigerverweise Mäuse benutzt, quantitativ bestimmen. 1 Mäuseeinheit liegt, je nach den Versuchsbedingungen und der Reinheit der Präparate, zwischen 0,05 und 0,3 mg. Schon aus der Tatsache, daß die bereits erwähnte Ratteneinheit in γ (also $1/1000$ mg) ausgedrückt wird, der Calcinose-Faktor jedoch einer 1000fach größeren Gewichtseinheit angehört, erkennt man, wie groß die Überdosierung sein muß, bis antirachitisch wirksame Präparate giftig wirken können. Wie bei anderen Pharmaka hat man auch hier das Verhältnis zwischen der heilenden und der schädigenden Dosis, den sogenannten therapeutischen Index, ermittelt. Er schwankt bei normal bestrahlten Ergosterin-Präparaten etwa zwischen den Werten 1 : 2000 bis 1 : 5000.

Schon vor längerer Zeit war behauptet worden, durch besondere Bestrahlungsbedingungen, vor allem durch Aus-

sehaltung bestimmter Wellenlängen mittels geeigneter Filter, könne man Präparate gewinnen, die nur noch antirachitisch wirksam seien und auch in hohen Dosen keine Toxizität mehr zeigten. Diese Behauptungen beruhten, wie nachgewiesen werden konnte, auch wieder darauf, daß man nicht mit genügender Sorgfalt an einem geeigneten Tiermaterial sowohl Wirksamkeit wie Giftigkeit quantitativ ausgewertet hatte. Tatsächlich ist das Verhältnis von Wirksamkeit zu Giftigkeit bei bestrahlten Ergosterin-Präparaten unabhängig von der Wellenlänge des zur Aktivierung benutzten Lichtes. Als es vor etwa einem Jahr gelungen war, aus dem Ergosterin-Bestrahlungsgemisch das reine antirachitische Vitamin in kristallinischer Form zu isolieren, wurde sogleich festgestellt, daß auch diese Präparate in hohen Dosen verkalkend und toxisch wirkten. Wir haben an etwa 1000 Ratten und 300 Mäusen die Grenzwerte in der bei uns üblichen Weise ermittelt und 0,02 γ bzw. 0,06 mg gefunden. Der therapeutische Index bewegt sich also in der gleichen Größenordnung (1 : 3000) wie bei den bisherigen rohen Bestrahlungsgemischen. Hiermit war aber die Grenze der methodischen Möglichkeiten des Tierversuchs erreicht. Zunächst gelten die obigen Durchschnittszahlen nur für das Tiermaterial und die sonstigen Versuchsbedingungen eines bestimmten Laboratoriums. Die an anderen Stellen ermittelten Werte können hiervon erheblich abweichen. Vor allem aber gestattet die Empfindlichkeit der Methoden es nicht mehr, einen Unterschied zwischen dem rohen Bestrahlungsgemisch und dem reinen Vitamin D nachzuweisen, wenn während der Bestrahlung des Ergosterins Stoffe entstehen, die nur giftig sind, ohne antirachitisch wirksam zu sein, aber nicht immer in solchen Mengen auftreten, daß sie innerhalb der unvermeidbaren Schwankungen des Tierversuchs, besonders wenn sie sich, wie bei der Bestimmung des therapeutischen Index, bei zwei verschiedenen Auswertungen geltend machen, bemerkt werden können.

daß sich in der Butter überhaupt Vitamin D nachweisen läßt, mehr als 1,5 kg täglich verzehren. Man sieht an diesem etwas grotesken Beispiel, daß man mit allgemeinen Angaben über den Vitamin-Reichtum von Nahrungsmitteln nicht viel anfangen kann. Maß und Zahl sind auch hier die entscheidenden Grundlagen wissenschaftlicher Betrachtungen.

Auch eine weitere Frage, die lange Zeit unbeantwortet blieb, konnte nur mit Hilfe einwandfreier Tierversuche entschieden werden. Sehr bald nach der Entdeckung des bestrahlten Ergosterins hatte man festgestellt, daß die Bestrahlungsprodukte in hohen Dosen giftig wirken. Sie zeitigen u. a. charakteristische Verkalkungen, die schließlich den Tod der Versuchstiere herbeiführen können. Da man lange Zeit nicht wußte, ob diese durch Überdosierung verursachten Nebenerscheinungen dem antirachitischen Vitamin selbst oder unvermeidbaren, vielleicht auch vermeidbaren Nebenprodukten zukommen, hat man für die Ursache des ganzen Symptomenkomplexes den Ausdruck „Calcinose-Faktor“ gewählt. Auch dieses verkalkende Prinzip läßt sich im Tierversuch, wobei man zweckmäßigerweise Mäuse benutzt, quantitativ bestimmen. 1 Mäuseeinheit liegt, je nach den Versuchsbedingungen und der Reinheit der Präparate, zwischen 0,05 und 0,3 mg. Schon aus der Tatsache, daß die bereits erwähnte Ratteneinheit in γ (also $1/1000$ mg) ausgedrückt wird, der Calcinose-Faktor jedoch einer 1000fach größeren Gewichtseinheit angehört, erkennt man, wie groß die Überdosierung sein muß, bis antirachitisch wirksame Präparate giftig wirken können. Wie bei anderen Pharmaka hat man auch hier das Verhältnis zwischen der heilenden und der schädigenden Dosis, den sogenannten therapeutischen Index, ermittelt. Er schwankt bei normal bestrahlten Ergosterin-Präparaten etwa zwischen den Werten 1 : 2000 bis 1 : 5000.

Schon vor längerer Zeit war behauptet worden, durch besondere Bestrahlungsbedingungen, vor allem durch Aus-

schaltung bestimmter Wellenlängen mittels geeigneter Filter, könnte man Präparate gewinnen, die nur noch antirachitisch wirksam seien und auch in hohen Dosen keine Toxizität mehr zeigten. Diese Behauptungen beruhten, wie nachgewiesen werden konnte, auch wieder darauf, daß man nicht mit genügender Sorgfalt an einem geeigneten Tiermaterial sowohl Wirksamkeit wie Giftigkeit quantitativ ausgewertet hatte. Tatsächlich ist das Verhältnis von Wirksamkeit zu Giftigkeit bei bestrahlten Ergosterin-Präparaten unabhängig von der Wellenlänge des zur Aktivierung benutzten Lichtes. Als es vor etwa einem Jahr gelungen war, aus dem Ergosterin-Bestrahlungsgemisch das reine antirachitische Vitamin in kristallinischer Form zu isolieren, wurde sogleich festgestellt, daß auch diese Präparate in hohen Dosen verkalkend und toxisch wirkten. Wir haben an etwa 1000 Ratten und 300 Mäusen die Grenzwerte in der bei uns üblichen Weise ermittelt und 0,02 γ bzw. 0,06 mg gefunden. Der therapeutische Index bewegt sich also in der gleichen Größenordnung (1 : 3000) wie bei den bisherigen rohen Bestrahlungsgemischen. Hiermit war aber die Grenze der methodischen Möglichkeiten des Tierversuchs erreicht. Zunächst gelten die obigen Durchschnittszahlen nur für das Tiermaterial und die sonstigen Versuchsbedingungen eines bestimmten Laboratoriums. Die an anderen Stellen ermittelten Werte können hiervon erheblich abweichen. Vor allem aber gestattet die Empfindlichkeit der Methoden es nicht mehr, einen Unterschied zwischen dem rohen Bestrahlungsgemisch und dem reinen Vitamin D nachzuweisen, wenn während der Bestrahlung des Ergosterins Stoffe entstehen, die nur giftig sind, ohne antirachitisch wirksam zu sein, aber nicht immer in solchen Mengen auftreten, daß sie innerhalb der unvermeidbaren Schwankungen des Tierversuchs, besonders wenn sie sich, wie bei der Bestimmung des therapeutischen Index, bei zwei verschiedenen Auswertungen geltend machen, bemerkt werden können.

Daß es in der Tat, beispielsweise durch Überbestrahlung des Ergosterins, gelingt, Stoffe herzustellen, die nur noch verkalken, aber nicht mehr antirachitisch wirksam sind, war schon vor langer Zeit gezeigt worden. Entstehen nun solche Stoffe auch bei der normalen ultravioletten Bestrahlung des Ergosterins? Diese Frage konnte, wie gesagt, nur durch die chemische Aufarbeitung des Bestrahlungsgemisches und die Reindarstellung der verschiedenen Substanzen, die sowohl auf dem Wege vom Ergosterin zum antirachitischen Vitamin als auch durch weitere Bestrahlung des bereits gebildeten Vitamins D entstehen, gelöst werden. Es hat sich zeigen lassen, daß sowohl auf dem Wege vom Ergosterin zum Vitamin D als auch nach der Bildung des antirachitischen Vitamins dauernd, auch bei normaler Bestrahlung, giftige Stoffe auftreten, die noch nicht oder nicht mehr antirachitisch wirksam sind. Während das Vitamin D selbst das einzige Bestrahlungsprodukt des Ergosterins ist, das antirachitisch wirkt, entstehen daneben mindestens noch zwei andere Umwandlungsprodukte, die toxisch sind.

Diese Feststellung hat eine große praktische Bedeutung. Man wird auch für die therapeutische Anwendung des Vitamins D nur noch kristallinische Präparate benutzen, um auf diese Weise zu vermeiden, daß in den Bestrahlungsgemischen noch unkontrollierbare Mengen dieser nur toxisch wirkenden Substanzen enthalten sind.

3) VITAMIN E

Von der als „Antisterilitätsvitamin“ mit dem Buchstaben „E“ bezeichneten fettlöslichen Fraktion, die vor allem in Weizenkeimlingen reichlich vorhanden ist, konnten bisher noch wenige Einzelheiten festgestellt werden. Vor allem fehlt die genaue Ausarbeitung eines quantitativen Bestimmungsverfahrens. Auch über ihre chemischen Eigenschaften liegen nur spärliche Angaben vor, so daß wir uns mangels eigener Erfahrungen auf diesem Gebiet mit diesem kurzen Hinweis begnügen wollen.

4) DIE VITAMIN-B-GRUPPE

Das wasserlösliche Vitamin B, dessen antineuritische, die Beri-Beri verhütende Eigenschaften schon lange bekannt waren, und von dem man auch wußte, daß es wachstumssteigernde Wirkungen aufweist, ist keine einheitliche Substanz. Man hat verschiedene Faktoren innerhalb der Vitamin-B-Gruppe unterschieden, die leider keine allgemein angenommene Bezeichnung gefunden haben. Während man vor allem in England die verschiedenen Vitamine dieser Gruppe durchnumeriert hat, also vom Vitamin B₁, B₂, B₃ usw. spricht, nannte man in Amerika die verschiedenen Faktoren Vitamin B, G, F usw. Solange man hier noch nicht zu chemisch gut charakterisierten Substanzen vorgedrungen ist, halten wir die Unterteilung der Vitamin-B-Gruppe nach Zahlen für zweckmäßiger.

Das antineuritische Vitamin B₁ ist, wie man seit kurzem weiß, ein schwefelhaltiges, in seinen Salzen schön kristallisiertes Amin, das sich aus Reiskleie und aus Hefe darstellen läßt. Seine Bruttoformel entspricht wahrscheinlich dem Ausdruck C₁₂H₁₆N₄OS. Die Darstellungsverfahren sind allerdings recht umständlich und liefern noch nicht 1 Prozent des gesamten in der Hefe enthaltenen antineuritischen Faktors, wenn man die Ergebnisse des Tierversuchs zugrunde legt. Die Wertbestimmungen an Tauben lassen sich recht gut durchführen. Die kleinste Menge, die unter bestimmten Bedingungen schwer Beri-Beri-kranke Tauben einen Tag lang heilt, ist eine Tauben-einheit. Sie beträgt bei frischer Preßhefe im Durchschnitt 0,01 g. Von dem kristallinischen Stoff, als Chlorhydrat, sind rund 2,5 γ notwendig. In der feuchten Brauerei-Preßhefe sind also etwa 0,006 % Vitamin B₁ vorhanden. Alles andere sind Ballaststoffe, die bei der Reindarstellung entfernt werden müssen.

Unsere Kenntnisse von den übrigen B-Faktoren sind wesentlich geringer. Man hat zwar für das Wachstumsvitamin im engeren Sinne, das meist als B₂ bezeichnet wird, ein recht

gutes Nachweisverfahren an wachsenden Ratten ausgearbeitet. Dies hat jedoch den Nachteil, daß auch das Vitamin B₁ für das Wachstum von Tieren nicht ganz entbehrlich werden kann. Man muß bei dieser Prüfung also Extrakte zulegen, die das Vitamin B₁ in möglichst konzentrierter Form enthalten. Je nach dem Reinheitsgrad derartiger Auszüge erhält man aber unterschiedliche Wachstumswirkungen, was neben anderen Beobachtungen zu der Annahme geführt hat, daß zum Körperwachstum noch weitere Faktoren, welche die Bezeichnungen B₃, B₄ und B₅ erhalten haben, notwendig sein sollen. Wenn es einmal möglich sein wird, für die Prüfung auf Vitamin B₂ im Rattenwachstumsversuch ein reines B₁-Präparat zu verwenden, wird sich herausstellen, ob eine Aufteilung in derartig viele Untergruppen bei den wasserlöslichen Wachstumsvitaminen überhaupt notwendig ist. Ob schließlich der mit den Buchstaben PP bezeichnete Stoff, der die Pellagra verhüttet, ob die Wachstumsfaktoren R und Y, ob die das Hefewachstum anregende und als „Bios“ bezeichnete Substanz alle zu dieser Gruppe gehören und auch chemisch miteinander verwandt sind, ist jetzt noch völlig unsicher. Es wird sicher noch geraume Zeit dauern, bis der ganze Vitamin-B-Komplex entwirrt und in chemisch reine, gut definierte Körper aufgeteilt sein wird.

5) VITAMIN C

Auch für das antiskorbutische Vitamin C liegt ein zuverlässiger, mit Meerschweinchen arbeitender Test vor, der es verschiedenen Autoren in jahrelanger Arbeit ermöglicht hat, aus Zitronen das antiskorbutische Vitamin weitgehend anzureichern und einiges über seine chemische Natur in Erfahrung zu bringen. Nachdem die Angaben über die Beziehungen zwischen Narkotin und diesem Vitamin von zahlreichen Nachprüfern nicht bestätigt werden konnten, wird zur Zeit die Frage untersucht, wie weit die in der Nebennierenrinde vorkommende Hexuronsäure

mit dem Vitamin C identisch ist. Mangels ausgedehnter eigener Erfahrungen soll hier auch auf dieses Problem nicht näher eingegangen werden.

C. Die Anwendung der für Vitamine und Hormone entwickelten Methoden auf andere Fragestellungen

Wie bereits eingangs erwähnt, läßt sich in ganz ähnlicher Weise auch bei den Hormonen zeigen, daß ihre Reindarstellung in erster Linie von der Entwicklung des Testobjekts abhängig ist. Daneben spielt auch die chemische Natur der einzelnen Hormone eine wesentliche Rolle. Wir wissen, daß einige von ihnen hochmolekulare, den Eiweißkörpern nahestehende, aus Aminosäuren aufgebaute Körper sind, deren chemische Analyse somit den gleichen Schwierigkeiten begegnet wie die der Eiweißstoffe. Bei einigen Hormonen, beispielsweise dem der Thymusdrüse oder der Zirbeldrüse, fehlt auch bisher ein brauchbares Testobjekt, so daß ihre Bearbeitung noch nicht richtig in Angriff genommen werden konnte. Man muß annehmen, daß die Zahl der innersekretorischen Drüsen begrenzt ist und daß die wichtigsten jetzt bekannt sind. Auch bei den Vitaminen sind die Ansichten, neue Körperklassen, die diesen Namen mit Recht verdienten, aufzufinden, nicht mehr sehr groß. Man könnte also mit einer gewissen Besorgnis oder Befriedigung, je nach der persönlichen Einstellung, dem Tag entgegensehen, an dem alle diese Stoffe soweit erforscht sind, als es bei dem jeweiligen Stand der Chemie überhaupt möglich ist. Die Natur hat aber dafür gesorgt, daß hier kein Mangel an Betätigungs möglichkeiten eintritt. Erstens gibt es in den großen Körperdrüsen spezifisch wirksame Substanzen, die ebenfalls Krankheiten heilen können, wie beispielsweise der gegen die perniziöse Anämie wirksame Leberstoff, der eigentlich weder richtig zu den Hormonen noch zu den Vitaminen gehört. Vor allem aber wissen wir aus einigen interessanten neueren Feststellungen, daß sowohl der tierische,

wie der pflanzliche Organismus Stoffe bildet, die gleichfalls in sehr kleinen Mengen besondere Aufgaben zu erfüllen haben. Ich erinnere an die kreislaufwirksamen Substanzen und an den Wuchsstoff Auxin. Nimmt man an, daß alle, oder zum mindesten ein großer Teil der Funktionen lebendiger Zellen in dem Sinne stofflich bedingt sind, daß sie von ganz spezifischen Substanzen reguliert oder ausgelöst werden, so bietet ihre zukünftige Erforschung ein zur Zeit völlig unübersehbares Tätigkeitsfeld.

Die Entwicklung der Lehre von der Immunität

PROF. DR. R. BIELING

Aus der Sero-bakteriologischen Abteilung „Boyer-Meister Lucius-Behringwerke“, Hoechst/Marburg

Als die damaligen *Farbwerke vorm. Meister-Lucius & Brüning* Anfang der 90er Jahre die Serum- und Impfstoff-Produktion begründeten, gliederten sie ihren technischen Betrieben ein wissenschaftliches Laboratorium an, das dem Entdecker der Serumtherapie, *Emil von Behring*, unterstand. Es hatte die Aufgabe, die neu begründete Immunitätslehre weiter auszubauen und zu unterbauen sowie exakte Prüfungsmethoden für die antitoxischen Sera auszuarbeiten und dabei die besten Methoden der praktischen Immunisierung zu finden, um möglichst hochwertige und wirksame Produkte herstellen zu können. 1899 war dies bereits so weit gelungen, daß *Behring* mit Stolz ein Diphtherie-Antitoxin mit 1200 Einheiten im Kubikzentimeter aufweisen konnte. Inzwischen haben sich die Herstellungsmethoden weiterhin so verbessern lassen, daß vom Diphtherie-Serum 2000fache, 4000fache und selbst 5000fache Sera den Ärzten bereitgestellt werden können, und daß von den übrigen antitoxischen Seren wie Tetanus-, Anaeroben-, Botulismus-, Dysenterie-, Schlangen- und Skorpion-Serum fortlaufend Präparate dargestellt werden, die die ersten Produkte mindestens um das 10 bis 20fache übertreffen.

Die wissenschaftlichen Untersuchungen, welche diese technischen Fortschritte veranlaßten, haben aber darüber hinaus ein allgemeines theoretisches Interesse für die Immunitätslehre gewonnen und konnten in den letzten Jahren mehr und mehr auch für die Aufklärung der Pathogenese einer Reihe klinischer Symptomenkomplexe und Krankheitsbilder herangezogen werden. Die in dieser Hinsicht in unseren Laboratorien fest-

gestellten Tatsachen und die daraus gewonnenen Gesichtspunkte sollen im folgenden zusammenfassend dargestellt werden. Unsere Arbeiten gehen aus von einer bewußten Umstellung in der Betrachtungsweise und Forschungsmethode. In dem Augenblick, in dem die Fragen der Krankheitsabwehr und der Ausbildung der Immunität und der Immunitätsreaktionen als ein pathologisch-physiologisches Geschehen aufgefaßt wurden, genügten nicht mehr die einfachen Formulierungen Ehrlichs, der alle Abwehrvorgänge des Körpers unter ihrer bildhaften Bedeutung ein später allzu häufig vergessenes „Als ob“ enthielten. Indem man systematisch die einzelnen Vorgänge untersuchte, welche sich an das Einbringen der Krankheitskeime oder ihrer Gifte in den gesunden Organismus anschlossen, gelang eine Aufklärung der Vorgänge, welche zur Vernichtung der Krankheitserreger und ihrer Gifte führen und weiterhin dann zur Ausbildung jener sich dabei entwickelnden Immunität genannten Bereitschaft, neue gleichartige Infektionen im Entstehen zu unterdrücken oder doch rasch zur Ausheilung zu bringen.

Die dominante Bedeutung des von Aschoff als funktionelle Einheit erkannten reticulo-endothelialen Zellsystems für die Abwehr und Unschädlichmachung der Krankheitserreger und die Ausbildung der Immunität trat dabei immer klarer hervor: Diese durch feinste Fortsetzungen netzartig zusammenhängenden Zellen kleiden die erweiterungsfähigen Bluträume, insbesondere auch die der großen Bauchorgane aus. Dringen nun Krankheitskeime oder ihre Gifte von außen oder von einem primären, lokalisierten Krankheitsherd aus in die Blutbahn ein, so erweitern sich die Bluträume in den Bauchorganen, also beispielsweise die rote Pulpa der Milz oder die zwischen den Leberzellbälkchen gelegenen sinusartigen Bluträume so stark, daß große Blutmengen hier zurückgehalten werden. Diese Erweiterung des Gefäßlumens führt

naturgemäß zu einer Stromverlangsamung. Die dem Blut beigemischten korpuskulären Fremdelemente, in unserem Fall also die Krankheitserreger, lagern sich dabei, wie bei allen Vorgängen der vaskulären Stase, den Wänden an und kommen damit in direkten Kontakt mit den diese Wände auskleidenden reticulo-endothelialen Zellelementen. Diese fixen Phagocyten sind dadurch in die Lage versetzt, ihre Freßtätigkeit aufzunehmen und dadurch die langsam vorbeifließende Blutflüssigkeit von ihren bakteriellen Beimischungen zu befreien. Die wandständigen, mit Fremdmaterial beladenen Zellen selbst aber verfallen nach der Aufnahme der Krankheitskeime der Vernichtung. Sie, die vorher schlanken Uferzellen, quellen auf, runden sich ab, lösen sich schließlich mit ihrer aufgenommenen Last, die inzwischen mehr oder minder stark verändert wurde, völlig aus dem netzartigen Verband heraus und werden in die Bluträume abgestoßen, die sie vorher auskleideten. Als große Mononucleäre und Histiocyten kreisen sie mit den eingeschlossenen, unschädlich gemachten Bakterien im Blut. Die entstandenen Lücken aber werden auffallend rasch durch junge Zellen wieder ausgefüllt. In bestimmten Fällen kommen diesen fixen Phagocyten auch die Kapillarendothelien und die im Blut kreisenden freien Leukocyten zu Hilfe.

Die mit Bakterien vollgestopften, ins Blut abgestoßenen Zellelemente werden schließlich von der Lunge abgefangen und hier abgebaut.

Man kann diese Vorgänge im histologischen Bild verfolgen, man kann aber auch den Ablauf der Bakterien-Elimination aus dem Körper verfolgen, indem man fortlaufend den Keim- und Giftgehalt des strömenden Blutes infizierter Tiere bestimmt. Damit erhält man ein Bild von der normalen Ausscheidungsfunktion der Gefäßwandzellen. Wenn man nun die Anzahl der funktionsfähigen Zellen dadurch stark vermindert, daß man die Milz entfernt, also ein Organ, das besonders reich an ihnen ist und gleichzeitig die übrigen

gestellten Tatsachen und die daraus gewonnenen Gesichtspunkte sollen im folgenden zusammenfassend dargestellt werden.

Unsere Arbeiten gehen aus von einer bewußten Umstellung in der Betrachtungsweise und Forschungsmethode. In dem Augenblick, in dem die Fragen der Krankheitsabwehr und der Ausbildung der Immunität und der Immunitätsreaktionen als ein pathologisch-physiologisches Geschehen aufgefaßt wurden, genügten nicht mehr die einfachen Formulierungen *Ehrlichs*, der alle Abwehrvorgänge des Körpers unter didaktisch wertvollen Symbolen zusammengefaßt hatte, die in ihrer bildhaften Bedeutung ein später allzu häufig vergessenes „Als ob“ enthielten. Indem man systematisch die einzelnen Vorgänge untersuchte, welche sich an das Einbringen der Krankheitskeime oder ihrer Gifte in den gesunden Organismus anschlossen, gelang eine Aufklärung der Vorgänge, welche zur Vernichtung der Krankheitserreger und ihrer Gifte führen und weiterhin dann zur Ausbildung jener sich dabei entwickelnden, Immunität genannten Bereitschaft, neue gleichartige Infektionen im Entstehen zu unterdrücken oder doch rasch zur Ausheilung zu bringen.

Die dominante Bedeutung des von *Aschoff* als funktionelle Einheit erkannten reticulo-endothelialen Zellsystems für die Abwehr und Unschädlichmachung der Krankheitserreger und die Ausbildung der Immunität trat dabei immer klarer hervor: Diese durch feinste Fortsetzungen netzartig zusammenhängenden Zellen kleiden die erweiterungsfähigen Bluträume, insbesondere auch die der großen Bauchorgane aus. Dringen nun Krankheitskeime oder ihre Gifte von außen oder von einem primären, lokalisierten Krankheitsherd aus in die Blutbahn ein, so erweitern sich die Bluträume in den Bauchorganen, also beispielsweise die rote Pulpa der Milz oder die zwischen den Leberzellbalkchen gelegenen sinusartigen Bluträume so stark, daß große Blutmengen hier zurückgehalten werden. Diese Erweiterung des Gefäßlumens führt

naturgemäß zu einer Stromverlangsamung. Die dem Blut beigemischten korpuskulären Fremdelemente, in unserem Fall also die Krankheitserreger, lagern sich dabei, wie bei allen Vorgängen der vaskulären Stase, den Wänden an und kommen damit in direkten Kontakt mit den diese Wände auskleidenden reticulo-endothelialen Zellelementen. Diese fixen Phagocyten sind dadurch in die Lage versetzt, ihre Freßtätigkeit aufzunehmen und dadurch die langsam vorbeifließende Blutflüssigkeit von ihren bakteriellen Beimischungen zu befreien. Die wandständigen, mit Fremdmaterial beladenen Zellen selbst aber verfallen nach der Aufnahme der Krankheitskeime der Vernichtung. Sie, die vorher schlanken Uferzellen, quellen auf, runden sich ab, lösen sich schließlich mit ihrer aufgenommenen Last, die inzwischen mehr oder minder stark verändert wurde, völlig aus dem netzartigen Verband heraus und werden in die Bluträume abgestoßen, die sie vorher auskleideten. Als große Mononukleäre und Histiocyten kreisen sie mit den eingeschlossenen, unschädlich gemachten Bakterien im Blut. Die entstandenen Lücken aber werden auffallend rasch durch junge Zellen wieder ausgefüllt. In bestimmten Fällen kommen diesen fixen Phagocyten auch die Kapillarendothelien und die im Blut kreisenden freien Leukocyten zu Hilfe.

Die mit Bakterien vollgestopften, ins Blut abgestoßenen Zellelemente werden schließlich von der Lunge abgefangen und hier abgebaut.

Man kann diese Vorgänge im histologischen Bild verfolgen, man kann aber auch den Ablauf der Bakterien-Elimination aus dem Körper verfolgen, indem man fortlaufend den Keim- und Giftgehalt des strömenden Blutes infizierter Tiere bestimmt. Damit erhält man ein Bild von der normalen Ausscheidungsfunktion der Gefäßwandzellen. Wenn man nun die Anzahl der funktionsfähigen Zellen dadurch stark vermindert, daß man die Milz entfernt, also ein Organ, das besonders reich an ihnen ist und gleichzeitig die übrigen

reticulo-endothelialen Zellen des Körpers mit einem elektiven Gift schädigt, so zeigt der dadurch entstandene Funktionsausfall die Bedeutung der entfernten oder durch Vergiftung ausgeschalteten Zellen. Durch r. Jancsó besitzen wir heute in dem Cuprocollargol ein für solche Versuche besonders geeignetes Präparat, dessen Anwendung zu einer histologisch leicht nachweisbaren schweren Schädigung des nach der Milzextirpation verbleibenden Restes des reticulo-endothelialen Zellsystems führt. Wenn man nun fortlaufend den Keimgehalt des Blutes so vorbehandelter und dann intravenös infizierter Versuchstiere verfolgt, so sieht man eine viel langsamere Ausscheidung und Vernichtung der ins Blut eingebrachten Krankheitskeime; dementsprechend kommt es dann auch zu einer raschen Vermehrung der Infektionserreger im Blut und zu einer vorzeitigen Entstehung der Sepsis und zum raschen Tod der Tiere.

Aber nicht nur die Krankheitskeime selbst, auch ihre Toxine werden auf dem Weg über die Reticulo-Endothelien ausgeschieden. Man kann das in gleicher Weise mit der gleichen Technik z. B. für das Tetanus-Toxin demonstrieren und er sieht daraus, daß nicht nur gröbere, korpuskuläre Elemente von der Größe der Bakterien, sondern auch kolloidale Fremdstoffe, wie sie die Toxine in ihrem natürlichen Zustand darstellen, durch den gleichen Zellapparat aufgenommen und ausgeschieden werden. Hiernach ist es verständlich, daß, wie sich ebenfalls nachweisen läßt, Stoffe, welche wir als Prototyp der filtrierbaren Vira kennen, also beispielsweise der Bakteriophage, mit dem gleichen Abwehrmechanismus des Körpers aus dem Blut entfernt werden.

Die Funktion des reticulo-endothelialen Zellsystems ist aber nicht nur maßgebend für die Überwindung des akuten Krankheitsprozesses und die Elimination seiner auslösenden Ursache, der mehr oder minder großen Krankheitserreger selbst und ihrer löslichen Gifte. Von seiner Funktionstüchtigkeit

hängt es auch ab, ob die Überwindung eines solchen Infektes zur Ausbildung der natürlichen Immunität, d. h. der gesteigerten Abwehrbereitschaft gegen einen zweiten gleichartigen Infekt führt oder nicht. Nun sind aber alle unsere künstlichen Immunisierungsmethoden, die Schutzimpfung Gesunder mit abgeschwächten Krankheitserregern oder mit modifizierten Krankheitsgiften nichts anderes als bestimmt dosierte Modellinfektionen, die naturgemäß zuerst einmal denselben Abwehrapparat in Anspruch nehmen und angreifen wie die natürliche Infektion selbst. Deshalb ist auch die Entstehung sowohl wie die Ausbildung der bei der Immunität mitwirkenden frei im Serum kreisenden sogenannten Antikörper an die Intaktheit des normalen reticulo-endothelialen Zellsystems gebunden und von ihr abhängig. Ja selbst dann, wenn man zum Zweck der passiven Immunisierung einem normalen, infizierten Tier die von einem anderen, aktiv immunisierten Tier gebildeten Antikörper zuführt, also bei der Serumtherapie, spielt sich offenbar ein Teil der Bindungs- und Abwehrvorgänge wiederum in den Reticulo-Endothelien ab. Immunität als Eigenschaft des gesamten Organismus ist also gebunden an ein durch den ganzen Körper verteiltes in der Milz besonders massiertes und in der Leber sehr zahlreich vorhandenes Zellgewebe. Dieses ist der Träger der gesamten Immunität und unter seiner Mitwirkung entstehen die für die humorale Immunität maßgeblichen sogenannten Antikörper des Serums.

Die erreichte Immunität kann sich nun ihrerseits darin zeigen, daß selbst massenhaft in die Blutbahn eingedrungene Krankheitserreger, z. B. solche bakterieller Natur rasch und restlos ausgeschieden werden, und daß die glatte Heilung erfolgt. Es kann aber auch bei geringerem Immunitätsgrad oder besonders hoher Virulenz des infizierenden Stammes zwar die Sepsis vermieden werden, jedoch immer noch zur Ansiedlung der abgedrängten Keime in einzelnen Organen, z. B. den Nieren kommen, so daß hier lokalisierte, umschriebene

Krankheitsprozesse, sogenannte Ausscheidungsherde, entstehen. Aber auch in dem ersten Falle ist die restlose Ausscheidung des Eindringlings nicht möglich, ohne daß reaktive Veränderungen im Körper entstehen, die an sich unspezifischer Natur sind, ihre Entstehung aber dem Aufeinanderwirken des Krankheitserregers und der durch die Vorinfektion gebildeten spezifischen Antikörper verdanken. Diese reaktiven Veränderungen können aber auch, ohne die Infektion völlig zu unterdrücken, sie weitgehend mildern und das pathologische Bild und den Ablauf dieser Infektion im vorbehandelten, immunisierten Körper in ganz charakteristischer Weise abwandeln. Diese charakteristischen Veränderungen des Infektionsablaufs unter dem Einfluß der Immunität kennen zu lernen ist deshalb von besonderer Bedeutung, weil derartig modifizierte Krankheitsbilder natürlich eine bessere Prognose bezüglich der Heilung aufweisen als die ungehemmt im nichtvorbehandelten Körper fortschreitende Infektion. Wir wollen diese beiden Typen an zwei Beispielen schildern.

Wenn man ein Versuchstier, beispielsweise ein Pferd, mit abgetöteten oder auch mit kleinen Mengen lebender Bakterien behandelt und dann allmählich mit der Injektionsmenge steigt, so entsteht eine Grundimmunität, die so stark wird, daß schließlich selbst große Dosen der lebenden Krankheitskeime eingespritzt werden können, ohne daß eine fortschreitende Sepsis entsteht. Auch wiederholte Blutinvasionen des gleichen Erregers werden immer wieder in gleicher Weise überwunden. Die reaktiven Vorgänge im Körper jedoch, welche bei den immer wiederholten Einbrüchen des Krankheitserregers in die Blutbahn entstehen, und welche die Abwehrreaktionen im Immuntier begleiten, führen schließlich ihrerseits zu chronischen pathologischen Veränderungen und zwar in erster Linie an drei Stellen des Körpers, nämlich am Endocard, am Myocard und an bzw. in den Gelenken. Die gleichen Vorgänge, welche in immunen Tieren auch die

schwerste akute Infektion überwinden helfen, führen zur Entwicklung des chronischen Gelenkrheumatismus. Beim Serum-pferd, bei dem in das immunisierte Tier immer wieder von neuem die Krankheitserreger in großen Massen eingebracht werden, sehen wir diese Trias der Veränderungen sich besonders deutlich entwickeln: Verrucöse Veränderungen an den Herzklappen, Myocardschwielen sowie periarticuläre und endoarticuläre Veränderungen, besonders in den Sprunggelenken. Auch für diesen experimentell erzeugten reaktiven Gelenkrheumatismus gilt der Satz von *Lasègue*: «Le rhumatisme aigu lèche les jointures, la plèvre, les méningues même, mais il mord le cœur». Maßgebend für die Entstehung dieses Krankheitsbildes ist nicht etwa eine lokale Infektion am Ort der pathologischen Veränderungen, sondern vielmehr der Schock, der auf der intravitalen Vereinigung von Antigen, d. h. den von neuem eingedrungenen und in Massen in die Blutbahn eingebrochenen Krankheitserregern und den durch die früheren Infektionen gebildeten spezifischen Antikörpern entsteht.

Beim Menschen sehen wir diesen in seiner Genese geschilderten Vorgang in erster Linie bei den mit den sogenannten Erkältungskrankheiten verknüpften Infektionen ablaufen. Die dabei in Frage kommenden Krankheitskeime sind aber nicht als die spezifischen Erreger der rheumatischen Erkrankung aufzufassen, denn nicht nur sie, sondern prinzipiell jeder Bazillus, der mehrfach in den Körper eindringt, und zu Blut- bzw. Allgemeininfektionen führen kann, kann auch das gleiche Bild hervorrufen. Im Experiment gelingt es daher sogar mit unbelebten Antigenen, so wie dies *Klinge* in letzter Zeit tatsächlich durchgeführt hat. Es gibt also keinen spezifischen Erreger für diese reaktive rheumatische Erkrankung, andererseits entsteht dieselbe nur auf Grund einer im serologischen Sinne spezifischen Antigen-Antikörperreaktion.

Daß auch chronische, schubweise verlaufende Infektionen, also beispielsweise die Tuberkulose, prinzipiell gleichartige

Bilder im Experiment hervorrufen können, konnte durch Untersuchungen am reinfizierten Kaninchen histologisch nachgewiesen werden. Im übrigen aber hat sich bei Serienversuchen zur Untersuchung dieser Phänomene bei experimenteller Tuberkulose gezeigt, daß reaktive Gefäßveränderungen auf Grund einer Immunisierung bestimmd sind für den Verlaufstyp einer Infektion, und es gelang in der pathologisch-histologischen Untersuchung die pathogenetischen Zusammenhänge im einzelnen aufzuklären und ihren Parallelismus zu den oben geschilderten Vorgängen der Entstehung reaktiver Krankheitsformen im einzelnen zu klären.

Nachdem dies erkannt war, schien es uns ein nobile officium, die alten Versuche von *Behring* und *Römer*, und zwar im Zusammenarbeiten mit *Ph. Schwartz* aus dem *Senckenbergischen Patholog. Institut in Frankfurt a. M.* wieder aufzunehmen. Zuerst wurde gezeigt, daß man Kaninchen durch eine Vorbehandlung mit avirulenten lebenden Keimen so immunisieren kann, daß sie eine intravenöse Nachinfektion, die bei den nichtinfizierten Tieren innerhalb weniger Wochen zum Tode führt, mehr oder minder lange überleben, ja daß die Tiere sogar — das ist nur eine Frage der Dosierung und des Intervalls zwischen Vorbehandlung und Nachinfektion — viele Monate überleben und dabei fast vollkommen ausheilen. Untersucht man nun fortlaufend die Entwicklung des Krankheitsprozesses beim immunisierten und nichtimmunisierten Tier anatomisch und histologisch, so ergibt sich als wesentlich, daß beim vorimmunisierten Tier nicht mehr nur verstreute, völlig isolierte kleine Ansiedlungs-herdchen entstehen, sondern daß überall, wenn es zur Ansiedlung kommt, das gesamte Organ als solches auf den Neuinfekt reagiert (Organreaktion). Wiederum sind es die von *Ricker* studierten und beschriebenen Erscheinungen der vasalen Stase und Gefäßverweiterung mit Randstellung der Leukozyten, Auswanderung der weißen Blutkörperchen, die zuerst unter das Endothel schlüpfen (subendothiale Kissen) und

dann in die perivasculären Räume gelangen, nachdem sich schon vorher, beispielsweise in den Lungen, reichliche Mengen von Exsudat angesammelt haben, so daß das Bild der echten Pneumonie entsteht. Diese rasch entstandene reaktive Pneumonie, die schließlich den Charakter der großzelligen Infiltration annimmt, schaltet zuerst große Teile der Lunge von dem Atemgeschäft aus; aber, und das ist das Wesentliche, sie schützt auch gleichzeitig das Lungengewebe vor der sonst auf die Tuberkelbildung folgenden käsigen Einschmelzung. Es kommt im weitesten Maße zur Resorption und Restitution, da ja die Struktur des Organes erhalten bleibt und, indem sich immer größere Teile der Lunge wieder an dem Atemgeschäft beteiligen, zu einer nicht nur anatomischen, sondern auch funktionellen Ausheilung. Die im vorbehandelten und immunisierten Organismus einsetzenden vasculären und exsudativen Reaktionen führen in den ersten Tagen nach der erneuten Invasion des Krankheitskeimes zu einem anscheinend schweren Krankheitsbild, das prognostisch günstig ist, da die rasch allgemein reagierenden Organe vor der sonst langsam fortschreitenden Zerstörungswirkung des Krankheitskeimes geschützt werden.

In *Behrings* Tagebuchaufzeichnungen von 1914 finden sich Notizen, welche zeigen, daß es ihm im Verlauf seiner weiteren Untersuchungen nach *Römers* Fortgang nach Greifswald gelungen war, zu ganz gleichartigen Ergebnissen zu kommen, nachdem er schon lange vorher in Briefen an *Friedrich von Müller* die Resorption der exsudativen tuberkulösen Pneumonie in Analogie zu der fibrinösen diskutiert hatte.

Das Wesentliche aller dieser auf Grund derartig pathologisch-physiologischer Untersuchungen gefundenen Anschauungen scheint aber diese bei der Tuberkulose-Infektion besonders klar zu demonstrierende Tatsache, daß der gleiche Infektionserreger bei verschiedener Immunitätslage des Infizierten ganz verschiedene Krankheitsbilder hervorrufen kann und zwar wie wir sehen 3 Typen:

1. Bei mangelnder Immunität eine mit längerer Inkubation beginnende, dann aber rasch fortschreitende tödliche Erkrankung.
2. Bei mittlerer Immunität eine mit rascher Reaktion unmittelbar an den Reinfekt auftretende, zuerst schwer erscheinende und ausgedehnte Organerkrankung mit der Tendenz zur Ausheilung.
3. Schließlich bei starker Immunität rasche Ausscheidung der Krankheitskeime vor ihrer Ansiedelung, die aber bei mehrfacher Wiederholung zu rein reaktiven, degenerativen Veränderungen führt, die wir als rheumatische Erkrankungen zu bezeichnen gewohnt sind.

Wie außerordentlich häufig derartige Reaktionen im Körper ausgelöst werden, ergibt sich aus der Feststellung, daß jedes in den Körper wiederholt eindringende Antigen, also prinzipiell jeder Krankheitserreger, sie auslösen kann. Ja es sind nicht einmal die mikrobiell bedingten Krankheiten allein, denn neuerdings konnte gezeigt werden, daß auch die Parasiten, welche den Körper durchwandern, dabei zu gleichartigen Immunitätsvorgängen führen und also ebenfalls die Ursache reaktiver Veränderungen bei den hier so häufigen Reinfektionen darstellen können.

Unsere pathologisch-physiologischen im Dienste der Krankheitsbekämpfung und der Krankheitsheilung unternommenen Untersuchungen gehören also sowohl ihrer experimentellen Technik halber wie auch wegen ihres Ziels in das Gebiet der experimentellen Therapie, welche sich seinerzeit *Behring* aus der Hygiene abtrennte, um sie als ein besonderes Forschungs- und Lehrgebiet besonders zu bearbeiten.

Die Entwicklung der Chemotherapie bakterieller Infektionen

DR. R. SCHNITZER

Aus dem Chemotherapeutischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG., Werk Hoechst

Die Chemotherapie bakterieller Infektionen ist heute ungefähr zwanzig Jahre alt. Die Bemühungen, bakterielle Infektionen auf chemischem Wege zu heilen, sind zwar schon so alt fast wie die Bakteriologie selber, führten aber trotz der großzügigen und umfassenden Versuche von *R. Koch* und *E. v. Behring* zu einer nur allzu pessimistischen Auffassung über die therapeutischen Möglichkeiten auf diesem Gebiet. Erst als *Morgenroth* die spezifische Wirkung des Aethylhydrocupreins (Optochin) auf die Pneumokokkeninfektion der Maus fand, war der erste erfolgreiche Schritt getan auf dem bisher völlig unzugänglichen Gebiete der inneren Desinfektion bakterieller Erkrankungen. Die lange Zeitspanne, die zwischen den früheren Versuchen *Kochs* und *v. Behrings* und der *Morgenrothschen* Entdeckung liegt und nicht minder die relativ langsame Entwicklung, welche die Chemotherapie bakterieller Allgemeininfektionen auch seither genommen hat, sprechen dafür, daß dieser jungen Forschungsrichtung nicht geringe Schwierigkeiten entgegenstanden. Es war naheliegend, die erfolgreichen Arbeitsprinzipien, die *Ehrlich* für die Chemotherapie protozoischer Infektionen entwickelt hatte, auch bei den bakteriellen Erkrankungen anzuwenden; wenn die Chemotherapie protozoischer Infektionen noch heute als das geschlossene Lehrgebäude erscheint, so liegt es daran, daß die dort entwickelte Methodik und die fruchtbaren Arbeitshypothesen auf bakterielle Infektionen nicht ohne weiteres anwendbar waren und von Grund auf neu erarbeitet werden mußten. Abhängig waren letzten Endes alle Fortschritte von der Schaffung einer geeigneten Versuchsmethodik, von Standardversuchen,

die bei aller Einheitlichkeit in Anlage und Verlauf doch noch genügend Variationsmöglichkeiten für willkürlich und gut beherrschbare Abänderungen bieten. So einfach im allgemeinen die Gestaltung der Versuche auch sein kann, so bieten sie doch eine Fülle von Problemen dar, die sich im Rahmen dieser kurzen Darstellung kaum mehr als andeutungsweise behandeln lassen.

An sich ist die schwerste Aufgabe der Chemotherapie, die Heilung einer septisch verlaufenden Allgemeininfektion, nämlich der mit Pneumokokken, zuerst gelungen. Kurz darauf gelang der Nachweis, daß auch andere bakterielle Allgemeininfektionen, die Milzbrandinfektion (*Schuster; Bettmann und Laubenheimer*) und der Schweinerotlauf (*Bierbaum*) chemisch beeinflußbar waren, und zwar durch Salvarsan. Aber erst viele Jahre später konnte die Frage der chemischen Beherrschung einer weiteren, praktisch wichtigen, bakteriellen Allgemeininfektion, der mit Streptokokken, einer Lösung genähert werden, obwohl gerade diese Erkrankung lange im Vordergrund des Interesses der Chemotherapie bakterieller Infektionen stand. Es lag wohl an der chemischen Richtung, welche anfänglich eingeschlagen worden war, daß die Chemotherapie bakterieller Infektionen sich mit den pathogenen Kokken besonders eingehend beschäftigte. Denn die chemische Variation im Sinne *Ehrlichs*, die naturgemäß auf dem Gebiet der Chinaalkaloide durchgeführt wurde, lehrte eine große Zahl von Verbindungen kennen, die mehr oder minder deutlich auf pathogene Kokken oder andere Wundinfektionserreger, vornehmlich grampositive Mikroorganismen, wirkten; diese Verbindungen, von denen das Isoamylhydrocuprein und das Isooctylhydrocuprein allgemein bekannt geworden sind, zeigten eine Wirksamkeit gegenüber Staphylokokken, Streptokokken, Diphtheriebakterien (*Braun und Schäffer*) und pathogenen Anaerobiern. Sie unterschieden sich zunächst einmal von der homologen Aethylverbindung mit ihrer streng spezifischen Wirkung durch einen relativ großen Streuungskegel, zeigten aber im Gegensatz dazu nicht wie diese die hohe spezifische Elevation über einen bestimmten Mikroorganismus, wenn auch innerhalb der homologen Reihen gewisse Optima angedeutet waren. Wertvoll sind diese Untersuchungen vor allem dadurch geworden, daß an ihnen die Methodik weiter ausgebaut und so weit entwickelt wurde, daß die Grundlage zur erfolgreichen Weiterarbeit gegeben war. Die eben genannten höheren Homologen des Hydrocupreins (bis zur Octylverbindung; bei längerer Kohlenstoffkette nimmt die Wirkung wieder ab) besitzen nämlich keine Wirkung gegenüber bakteriellen Allgemeininfektionen. Sie sind vielmehr gekennzeichnet durch eine bedeutende, entwicklungshemmende Wirkung im Reagenzglas und in vivo durch eine örtliche antiseptische Wirksamkeit. Sie sind chemotherapeutische Antiseptica, bestimmt zu der von *Klapp, Rosenstein u. a.*

verwirklichten Tiefenantiseptis. Morgenroth hat diesen Spezialfall chemischer Leistung scharf von der inneren Desinfektion abgegrenzt. Die Versuchstechniken, die der chemotherapeutischen Antiseptis zugrunde liegen, wurden in größerem Umfange angewandt, sobald Wright, ferner Neufeld und seine Mitarbeiter gezeigt hatten, daß beim Aethylhydrocuprein und auch beim Salvarsan der Heilwirkung bei Pneumokokken-, bzw. Milzbrand- und Rotlauf-Infektionen auch eine entwicklungshemmende und abtötende Wirkung auf diese Erreger im Reagenzglase entsprach. Damit war ein bequemes, leicht variierbares Verfahren eingeführt, dessen Ergebnisse eine Orientierung über die allgemeinen chemotherapeutischen Eigenschaften neuer Verbindungen im gewissen Umfange vermittelnen konnten. Daß die Ergebnisse dieser Versuche nur bedingte Geltung haben, lehrte der weitere Ausbau dieser Methode; heute muß man sagen, daß der Entwicklungshemmungsversuch ebenso wie der Abtötungsversuch *in vitro* nur als Ergänzung des Tierversuches Bedeutung beanspruchen kann. Ein Parallelismus zwischen Reagenzglas- und Tierversuch besteht nur in beschränktem Ausmaße, aber gerade die Divergenzen sind aufschlußreich. Für die chemotherapeutischen Antiseptica sind als tierexperimentelle Methoden die Verfahren zur Messung örtlich antiseptischer Leistung geschaffen worden, entweder in Form der tiefenantiseptischen Methoden an geschlossenen Infektionsherden (Morgenroth und Abraham) oder an offenen, infizierten Wunden (Brunner und Gonzenbach, Neufeld, Schiemann und Mitarbeiter; Braun und Feiler).

Dies war die versuchstechnische Basis, auf der sich die Chemotherapie der pathogenen Kokken und der anderen Wundinfektionserreger aufbaute. Bestimmte chemische Erwägungen, die noch in gewisser Weise mit den Erfahrungen bei der Variation der Chinaalkaloide zusammenhingen, waren es, die zunächst die Akridinfarbstoffe in den Vordergrund der Betrachtungen rückten.

II.

Will man mit wenigen Worten kennzeichnen, welche Bedeutung den bakteriziden Akridinfarbstoffen, als deren wichtigste Repräsentanten das Trypaflavin (3, 6-diaminomethyl-akridiniumchlorid) und das Rivanol (2-Aethoxy-6, 9-diamino-akridinlaktat) näher betrachtet werden sollen, neben ihren praktisch bereits verwerteten und allgemein bekannten Eigenschaften zukommt, so kann man sagen, daß bei der Auffindung

und Weiterentwicklung dieser Präparate sich die methodische Klärung vollzog, die erlaubte, auf dem Gebiet der Chemotherapie der Streptokokken erfolgreiche Weiterarbeit zu leisten.

Beide Verbindungen, besonders das Trypaflavin, sind Chemotherapeutica von relativ weitem „Streuungskegel“, d. h. ihre Wirkung erstreckt sich auf eine ganze Reihe auch systematisch einander fernstehender Bakterienarten. Neben den pathogenen Kokken, von denen Streptokokken, Staphylokokken und Gonokokken aus gleich zu erörternden Gründen eine besondere Bedeutung besitzen, werden auch grampositive (z. B. Diphtherie) und gramnegative Stäbchen (Typhus-Coli-Gruppe, Brucella-Gruppe) und die Keime vom Pasteurella-Typ sowie Vibrionen beeinflußt. Die bakterizide Wirkung des Rivanol kommt nur bei einem Teil der obengenannten Keime in höherem Ausmaße zur Geltung, erreicht aber bei Streptokokken und Staphylokokken ein Optimum. Diese Beurteilung stützt sich vorwiegend auf die Ergebnisse des Reagenzglasversuches, dessen Wert sich gerade bei der kritischen Ausarbeitung dieser beiden Verbindungen im Zusammenhang mit ihren zahlreichen chemischen Varianten ergeben hat. Für die Gruppe bakterizider Akridinfarbstoffe ergab sich daraus als Regel, daß diejenigen Verbindungen, denen eine Wirkung im Tierversuch zukommt, auch eine mehr oder minder starke Wirksamkeit im Reagenzglase haben. Umgekehrt gilt aber diese Regel nicht. Es besteht sogar eine gewisse Unabhängigkeit zwischen Reagenzglas- und Tierversuch — zugrunde gelegt ist diesen Betrachtungen die örtliche, tiefenantiseptische Wirkung im lebenden Gewebe —, da der Reagenzglasversuch keinen sicheren Anhalt für die Größenordnung der Wirkung im infizierten Organismus gibt. Charakteristisch für dieses Verhalten, das verschiedene Vorstufen des Rivanol zeigten, ist ein Vergleich von Rivanol und Trypaflavin in ihrer Wirkung auf hämolytische Streptokokken an einem größeren Versuchsmaterial.

Tabelle 1

Zusammenstellung von Reagenzglasversuchen mit Trypaflavin an 65 verschiedenen Streptokokkenstämmen.

Abtötende Konzentration	Wirkung auf Streptokokkenstämme	
	Anzahl	%
stärker als 1: 100 000	11	16,9
1: 100 000—400 000	26	40
1: 500 000—1 000 000	13	20
1: 1 500 000—3 000 000	11	16,9
1: 5 000 000 und weniger	4	6,2
	<hr/> 65	

Tabelle 2

Zusammenstellung von Reagenzglasversuchen mit Rivanol an 231 verschiedenen Streptokokkenstämmen.

Abtötende Konzentration	Wirkung auf Streptokokkenstämme	
	Anzahl	%
1: 20 000	6	
1: 40 000	16	10
1: 80 000	72	
1: 160 000	72	83
1: 320 000	48	
1: 640 000	17	7
	<hr/> 231	

Man erkennt leicht, daß für beide Verbindungen eine große Mittelgruppe von Stämmen existiert, die eine normale Beeinflußbarkeit zeigen. Beim Trypaflavin umfaßt diese Normalität das Konzentrationsgebiet von 1:100 000 bis 1:3 000 000, beim Rivanol ist das Niveau etwas niedriger und liegt bei 1:80 000 bis 1:320 000.

Ergänzend gibt eine Zusammenstellung der Tierversuche ein Bild der Beziehungen der beiden Versuchsanordnungen.

Tabelle 3

Zusammenstellung der Ergebnisse von subkutanen Desinfektionsversuchen mit Trypaflavin an 30 hämolytischen Streptokokkenstämmen.

Abtötende Konzentration	Wirksam auf Streptokokkenstämmen	
	Anzahl	%
1: 10000 und mehr	3	10
1: 20000	10	33
1: 40000	12	40
1: 80000	5	17
	30	

Tabelle 4

Zusammenstellung der Ergebnisse von subkutanen Desinfektionsversuchen mit Rivanol an 181 hämolytischen Streptokokkenstämmen.

Abtötende Konzentration	Wirksam auf Streptokokkenstämmen	
	Anzahl	%
1: 5000	2	
1: 10000	14	9
1: 20000	49	
1: 40000	56	79
1: 80000	38	
1: 160000 und weniger	22	12
	181	

Die Betrachtung der beiden letzten Übersichten lehrt, daß im Tierversuch Trypaflavin und Rivanol ungefähr gleichwertig sind und daß trotz der Divergenz in vitro, in vivo die Mehrzahl der Streptokokken durch die mittleren Konzentrationen 1: 20000 bis 1: 80000 beeinflußt werden. Die Annäherung der Wirkung in vivo an diejenige in vitro, wie sie beim Rivanol zum Ausdruck kommt, hielt *Morgenroth* für besonders günstig. Der absolute Desinfektionsquotient, errechnet aus: $\frac{\text{abtötende Konzentration im Gewebe}}{\text{abtötende Konzentration in vitro}}$, der zugleich als Maß der durch Gewebezellen nicht beeinträchtigten direkt antiseptischen Wirkung galt, mußte möglichst groß,

im Idealfalle = 1 sein (Rivanol 1 : 2—2,5). Die Wirkung des Rivanol erstreckt sich auf humane und tierische Streptokokken, wie dies für die Galtstreptokokken in letzter Zeit *Seelemann* klinisch nachgewiesen hat. Die Kombination mit den im folgenden Abschnitt zu besprechenden Nitroakridinfarbstoffen aktiviert das Rivanol nachweisbar in spezifischer Richtung. Diese Kombination ist in den Entozonpräparaten praktisch verwertet.

Die verschiedenen Indikationsgebiete des Trypaflavin einerseits, des Rivanol andererseits leiten sich, abgesehen von bestimmten Faktoren, wie Farbstoffcharakter und allgemeine Toxizität von den spezifischen Eigenschaften der beiden Verbindungen gegenüber weiteren Krankheitserregern her: während das Rivanol eine seiner Streptokokkenwirkung entsprechende, öfter sogar gesteigerte Wirksamkeit gegenüber Staphylokokken besitzt, gewinnt das Trypaflavin praktische Bedeutung durch seine Wirkung auf Gonokokken. Die Schwierigkeit des Nachweises der Wirksamkeit auf Gonokokken, die bekanntlich bei Versuchstieren keine echten Infektionen hervorzurufen vermögen, braucht wohl nur erwähnt zu werden. Die gegenüber sehr zahlreichen Agentien zu beobachtende hohe Empfindlichkeit der Gonokokken *in vitro* erlaubt keine bindenden Schlüsse aus den Ergebnissen dieser Versuchsanordnung; es waren daher spezielle, kurzfristig arbeitende tierexperimentelle Modelle erforderlich, mit deren Hilfe sich feststellen ließ, daß Trypaflavin noch in einer Verdünnung 1 : 50000—100000 Gonokokken im lebenden Organismus abtötet. Dieser Wert mag zwar im Vergleich zu den äußerst geringen, *in vitro* wirksamen Konzentrationen (1 : 2—500000 und weniger) groß erscheinen, bedeutet aber für die *in vivo* recht schwer beeinflußbaren Gonokokken ein Optimum und erklärt die klinisch bei intravenöser Allgemeinbehandlung und urethraler oder cervicaler Lokalbehandlung erzielten Erfolge. Auf die vornehmlich prophylaktisch wichtige

Wirksamkeit der Akridinfarbstoffe gegenüber anaeroben Wundinfektionserregern braucht nur hingewiesen zu werden. Nach *R. Goldschmidt* kommt hier dem wenig giftigen Dimethoxy-10-methylacridinum eine besonders gute und sichere Wirkung zu.

III.

Wenden wir uns vom Gebiet der örtlichen Behandlung mehr oder weniger örtlich abgegrenzter Infektionen der Chemotherapie der Allgemeininfektionen zu, so läge es nahe, von Verbindungen mit so hoher Wirksamkeit auf pathogene Kokken wie Trypaflavin und Rivanol auch eine Beeinflussung einer Allgemeininfektion zu erwarten. Dies ist aber nicht der Fall, oder zumindest erhält man eine Heilung von z. B. Strepto- oder Pneumokokkenallgemeininfektion nur unter ganz besonders günstigen, selten reproduzierbaren Bedingungen, eine Erfahrung, die in den Beobachtungen der klinischen Praxis sich wiederholt. Bei der septischen Erkrankung des Menschen kann Rivanol ebenso wie Trypaflavin wirksam sein, aber solche Erfolge sind nicht immer, sondern nur bei einzelnen günstig liegenden Fällen zu erzielen. Die Forderungen, die für optimale chemotherapeutische Antiseptica erhoben und experimentell am Trypaflavin und Rivanol erarbeitet wurden, sind eben ganz andere als diejenigen, die an ein inneres Desinfizienz gestellt werden müssen. Im ersten Falle steht im Vordergrund die Reizlosigkeit im Gewebe und eine antiseptische Dauerwirkung, die ein gewisses Maß von Organotropie notwendig macht („antiseptische Imprägnation“ *Morgenroths*). Im 2. Falle muß die Parasitotropie ganz erheblich überwiegen, bei rascher Verteilung im gesamten infizierten Organismus soll das innere Desinfizienz so ungiftig sein, daß wirksame Konzentrationen des Heilmittels zumindest eine Zeitlang kreisen und durch geeignete Wiederholung der Behandlung ausreichend hoch gehalten werden können.

Verbindungen mit solchen Eigenschaften sind in der Reihe der Akridinfarbstoffe gefunden worden; sie gehören der Gruppe substituierter Nitro-Akridine an, die bei relativ geringer Giftigkeit und hoher spezifisch gegen Streptokokken gerichteter Wirkung *in vitro*, regelmäßig die Allgemeininfektion mit haemolytischen Streptokokken heilen.

Die wesentliche chemische Gruppe für das Zustandekommen dieser Wirksamkeit ist die NO_2 -Gruppe, wie sich aus der folgenden Übersicht (Tabelle 5) ergibt:

Tabelle 5

Wirkung von substituierten 9-Aminoakridinen mit und ohne Nitrogruppe.

Präp.-Nr.	Abtötende Konzentration		Wirk. bei Allgemein-Infektion	Präp.-Nr.	Abtötende Konzentration		Wirk. bei Allgemein-Infektion
	<i>in vitro</i>	im Gewebe			<i>in vitro</i>	im Gewebe	
3043	1:10000000	1:50000	+	2981	1:100000	1:300	0
2046	1:3000000	1:25000	++	2100	1:75000	1:100	—
3043a	1:4000000	1:20000	+++	3571	1:50000	1:1000	0

mit Nitrogruppe

ohne Nitrogruppe

Zeichenerklärung:

0	= gar keine Wirkung	im Simultan- versuch
+	= Dos. tol. heilt 50 % der Tiere	
++	= Dos. tol. heilt 70—100 %	
+++	= weniger als Dos. tol. heilt 70—100 %	

Die optimale Verbindung dieser Gruppe, die noch mit $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{10}$ der dosis tolerata akute und chronische Streptokokken-Infektionen sicher beeinflußt, hat auch beim kranken Menschen schon vielfach zur Heilung der Streptokokkensepsis geführt. Nach Friedemanns Erfahrungen bei prognostisch besonders ungünstigen Streptokokkenempyemen der Pleura kann auch die örtliche Applikation derartiger Verbindungen infolge der sehr raschen Sterilisierung der großen infizierten Höhlen lebensrettend wirken. Den Wirkungsmechanismus der Nitroakridine darf man sich als direkte Wirkung auf die Streptokokken vorstellen, und zwar, wie weitere Versuche ergaben, an

einem anderen Angriffspunkt als die gleich zu erwähnenden Goldverbindungen. Neben anderen Anhaltspunkten, die man für diese Annahme hat, spricht für sie vor allem die sehr schnelle Abtötung der Erreger, die — wie man in besonderen Versuchsanordnungen feststellen kann — im infizierten Organismus schon innerhalb weniger Minuten stattfindet.

Solche Effekte sind mit anderen Verbindungen kaum zu erzielen, auch die Versuche *Brownings* und seiner Mitarbeiter mit den Chinolinverbindungen vom Typ des Quinanils sind — da örtlich behandelt wird — nicht recht überzeugend. Dagegen besitzen, wie *Feldt* und *Schiemann* zuerst nachwiesen, Goldverbindungen eine ähnlich gute Wirkung auf die Streptokokkenallgemeininfektion. Diese Wirkung kommt in mehr oder minder starkem Ausmaße fast allen Goldverbindungen zu, die sich je nach Toxizität und Wirkungsstärke nur durch die chemotherapeutischen Indices unterscheiden, die zwischen $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{15}$ schwanken. Der Umstand, daß die meisten Goldverbindungen — keineswegs etwa alle — *in vitro* nur eine äußerst schwache entwicklungshemmende oder abtötende Wirkung erkennen lassen, hat auf diesem Gebiet gerade in der Frage des Wirkungsmechanismus gewisse Schwierigkeiten bereitet. Es kam hinzu, daß bei dem hauptsächlichsten Anwendungsgebiet des Goldes, der Tuberkulose oder Lepra, die klinischen Beobachtungen im Gegensatz zu den am Sancrysin durch *Möllgaard* entwickelten Anschauungen für eine indirekte Wirkung durch eine mehr unspezifische Umstimmung des kranken Gewebes sprechen. So schien den Goldverbindungen in gewisser Hinsicht mit Recht eine „katalytische“ indirekte Heilfähigkeit zuzukommen. Große Erfahrungen aber, die mit vielen chemischen Variationen und verschiedenen Versuchsanordnungen gewonnen wurden, sprechen dafür, daß bei den Streptokokkeninfektionen (und auch bei den Spirochäteninfektionen) direkte parasitozide Kräfte im Sinne *Ehrlichs* am Werke sind. Die strenge Abhängigkeit von der Größe

der Dosis, die Schnelligkeit, mit der die Sterilisierung des Organismus einsetzt und schließlich noch die hier erfolgreich durchgeführte Festigung eines Streptokokkus gegen Gold, sind nur einige der Tatsachen, die für diese Annahme sprechen.

IV.

Es wurde eben die Dosierungsfrage, d. h. die Feststellung, daß eine bestimmte Golddosis (*Dosis therapeutica minima*) verabfolgt werden muß, die wohl innerhalb der Verträglichkeitsgrenzen überschritten, aber nicht unterschritten werden darf, absichtlich in den Vordergrund der Betrachtung gerückt. Dies erlaubt nämlich eine Abgrenzung gegen dasjenige Sondergebiet der Chemotherapie bakterieller Infektionen, das die Arbeiten *Walbums* über „Metallsalztherapie“ umfaßt. Hier findet sich — und zwar zur Zeit noch ganz isoliert — die Beschränkung der Wirkung auf ein deutliches Optimum bei sehr kleinen Dosierungen, oberhalb und unterhalb derselben die Wirkung ausbleibt. Hier wurde auch eine weitere ungewöhnliche Tatsache beobachtet, die für die Reproduzierbarkeit der Versuche von Bedeutung ist: die Abhängigkeit der therapeutischen Eigenschaft der Metallsalze von der Ernährung. So gelingt zum Beispiel die Heilung der Fütterungsinfektion der Maus mit Mäusetyphusbazillen durch Behandlung mit Caesiumchlorid nur dann, wenn die Tiere nicht mit Milch ernährt wurden. Neben dem Caesiumsalz wirkt auch Iridiumchlorid auf diese Infektion, während Zinn- oder Zirkoniumchlorid einen gewissen Einfluß auf die Staphylokokkeninfektion haben soll. Diese Versuche sind nach *Walbums* eigenen Worten schwer reproduzierbar; soweit dies die Beeinflussung der Staphylokokkenallgemeininfektion anbelangt, stimmt dies mit eigenen Erfahrungen überein, aus denen sich ergibt, daß diese Infektion in bezug auf Heilbarkeit anderen Gesetzen folgt, als sie uns bisher vertraut waren.

einem anderen Angriffspunkt als die gleich zu erwähnenden Goldverbindungen. Neben anderen Anhaltspunkten, die man für diese Annahme hat, spricht für sie vor allem die sehr schnelle Abtötung der Erreger, die — wie man in besonderen Versuchsanordnungen feststellen kann — im infizierten Organismus schon innerhalb weniger Minuten stattfindet.

Solche Effekte sind mit anderen Verbindungen kaum zu erzielen, auch die Versuche *Brownings* und seiner Mitarbeiter mit den Chinolinverbindungen vom Typ des Quinanils sind — da örtlich behandelt wird — nicht recht überzeugend. Dagegen besitzen, wie *Feldt* und *Schiemann* zuerst nachwiesen, Goldverbindungen eine ähnlich gute Wirkung auf die Streptokokkenallgemeininfektion. Diese Wirkung kommt in mehr oder minder starkem Ausmaße fast allen Goldverbindungen zu, die sich je nach Toxizität und Wirkungsstärke nur durch die chemotherapeutischen Indices unterscheiden, die zwischen $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{10} - \frac{1}{15}$ schwanken. Der Umstand, daß die meisten Goldverbindungen — keineswegs etwa alle — *in vitro* nur eine äußerst schwache entwicklungshemmende oder abtötende Wirkung erkennen lassen, hat auf diesem Gebiet gerade in der Frage des Wirkungsmechanismus gewisse Schwierigkeiten bereitet. Es kam hinzu, daß bei dem hauptsächlichsten Anwendungsgebiet des Goldes, der Tuberkulose oder Lepra, die klinischen Beobachtungen im Gegensatz zu den am Sancrysin durch *Møllgaard* entwickelten Anschauungen für eine indirekte Wirkung durch eine mehr unspezifische Umstimmung des kranken Gewebes sprechen. So schien den Goldverbindungen in gewisser Hinsicht mit Recht eine „katalytische“ indirekte Heilfähigkeit zuzukommen. Große Erfahrungen aber, die mit vielen chemischen Variationen und verschiedenen Versuchsanordnungen gewonnen wurden, sprechen dafür, daß bei den Streptokokkeninfektionen (und auch bei den Spirochäteninfektionen) direkte parasitozide Kräfte im Sinne *Ehrlichs* am Werke sind. Die strenge Abhängigkeit von der Größe

der Dosis, die Schnelligkeit, mit der die Sterilisierung des Organismus einsetzt und schließlich noch die hier erfolgreich durchgeführte Festigung eines Streptokokkus gegen Gold, sind nur einige der Tatsachen, die für diese Annahme sprechen.

IV.

Es wurde eben die Dosierungsfrage, d. h. die Feststellung, daß eine bestimmte Golddosis (*Dosis therapeutica minima*) verabfolgt werden muß, die wohl innerhalb der Verträglichkeitsgrenzen überschritten, aber nicht unterschritten werden darf, absichtlich in den Vordergrund der Betrachtung gerückt. Dies erlaubt nämlich eine Abgrenzung gegen dasjenige Sondergebiet der Chemotherapie bakterieller Infektionen, das die Arbeiten *Walbums* über „Metallsalztherapie“ umfaßt. Hier findet sich — und zwar zur Zeit noch ganz isoliert — die Beschränkung der Wirkung auf ein deutliches Optimum bei sehr kleinen Dosierungen, oberhalb und unterhalb derselben die Wirkung ausbleibt. Hier wurde auch eine weitere ungewöhnliche Tatsache beobachtet, die für die Reproduzierbarkeit der Versuche von Bedeutung ist: die Abhängigkeit der therapeutischen Eigenschaft der Metallsalze von der Ernährung. So gelingt zum Beispiel die Heilung der Fütterungsinfektion der Maus mit Mäusetyphusbazillen durch Behandlung mit Caesiumchlorid nur dann, wenn die Tiere nicht mit Milch ernährt wurden. Neben dem Caesiumsalz wirkt auch Iridiumchlorid auf diese Infektion, während Zinn- oder Zirkoniumchlorid einen gewissen Einfluß auf die Staphylokokkeninfektion haben soll. Diese Versuche sind nach *Walbums* eigenen Worten schwer reproduzierbar; soweit dies die Beeinflussung der Staphylokokkenallgemeininfektion anbelangt, stimmt dies mit eigenen Erfahrungen überein, aus denen sich ergibt, daß diese Infektion in bezug auf Heilbarkeit anderen Gesetzen folgt, als sie uns bisher vertraut waren.

Noch etwas umstritten sind die Erfolge *Walbums* bei der experimentellen Tuberkulose von Meerschweinchen und Kaninchen, wo eine längere Zeit fortgesetzte Behandlung mit Cadmium- oder Manganchlorid zur Heilung führen soll. Auch hier werden die Metallsalze in kleiner, optimaler, nach der Reaktionsform des Tieres abgestufter Dosierung verabfolgt. Die Tuberkulose und ebenso die Lepra nehmen ja in therapeutischer Hinsicht eine Sonderstellung ein, da in beiden Fällen systematische, klinische Empirie der Laboratoriumsforschung vorausgeht ist. Die Wirksamkeit der Goldverbindungen bei bestimmten Fällen von Lungentuberkulose wird allgemein als eine unspezifische, gewebsumstimmende anerkannt und ebenso ist der Wirkungsmechanismus der Ester des Chaulmoograöls und verwandter Öle und der Goldpräparate auf die Lepra nicht ohne weiteres als chemotherapeutisch in engerem Sinne, d. h. als parasitoid anzusehen. Es erscheint aber nicht ausgeschlossen, daß das tierexperimentelle Modell der Rattenlepra bei geeigneter Versuchsanordnung imstande ist, doch auf diesem Gebiete Erkenntnisse zu vermitteln, die für die Auffindung neuer wirksamer Verbindungen richtunggebend sind. Die Versuche von *Meissner* und *Hesse*, die den Wirkungswert der Heilmittel sowohl *in vitro* nach der Kapillarmethode von *Wright* als auch *in vivo* am Meerschweinchen und am superinfizierten Kaninchen ermitteln, deuten darauf hin, daß man auch bei Tuberkulose Verbindungen von echter chemotherapeutischer Wirksamkeit finden kann, eine Annahme, die auch durch die Entdeckung *Jessens* über die vitale Anfärbbarkeit tuberkulöser Lungenherde gestützt wird. Die bisher näher erforschten Präparate wie das Indaminblau, das Safranin, das Tanninheliotrop bedeuten die ersten Ansätze zu weiteren Arbeiten.

Große Gebiete der Chemotherapie bakterieller Infektionen sind noch wenig oder gar nicht bearbeitet, bzw. liegen die Untersuchungen noch nicht in der Literatur vor. Zweifellos

ist aber die Methodik derartiger Arbeiten soweit entwickelt, daß zumindest tastend empirischem Vorgehen auch bisher unerschlossene Bezirke zugänglich sind. Das Hauptfordernis ist stets eine regelmäßig reproduzierbare, in ihrem Verlauf wohl bekannte und variierbare, tierexperimentelle Methode, an der man neue Chemotherapeutica prüfen und nach der Auffindung wirksamer Verbindungen auch deren Mechanismus soweit analysieren kann, daß die chemische Variation die — allerdings nur in engem Gruppenbereich gültigen — Beziehungen zwischen Konstitution und Wirkung herstellt, deren Kenntnis zum Ausbau einer optimal wirksamen Verbindung nötig ist.

An dieser Stelle sei auch noch mit wenigen Worten auf die chemotherapeutische Biologie der bakteriellen Krankheitserreger eingegangen. *Ehrlich* verstand darunter diejenigen Erscheinungen, die man unter anderem beim Studium der spezifischen Arzneifestigkeit kennen lernt. Echte spezifische Arzneifestigkeit ist bisher nur bei Pneumokokken bekannt, die durch vorsichtig gesteigerte Dosierung gegen Aethylhydrocuprein *in vitro* und *in vivo* völlig unempfindlich werden können, unter Umständen — bei sehr schwacher Dosis — auch ein vorübergehendes Stadium der Überempfindlichkeit (*Schnabel*) aufweisen. Viele andere Bakterien — die meisten derartigen Versuche konnten nur *in vitro* angestellt werden — zeigen auch Gewöhnungerscheinungen, die zu einer hohen Resistenz gegen die angewandten Mittel führen, sind dabei aber morphologisch oder funktionell stark verändert, so daß diese Erscheinungen mit denen einer echten Festigkeit, die nur die Empfindlichkeit gegen das festigende Agens betrifft, nicht ohne weiteres vergleichbar sind. Meist fehlt dann auch das Hauptfordernis der Spezifität der Festigkeit. Besonders interessant liegen die Verhältnisse bei den Streptokokken, wo sie an Hand der Akridinfarbstoffe näher bearbeitet wurden. Die hämolytischen Streptokokken können der Wirksamkeit der Akridine unter Verlust von Hämolyse und chemischer

Empfindlichkeit ausweichen und eine Heilung vortäuschen. Sobald aber diese biologisch entwerteten Keime in den Zustand der Virulenz unter Rückgewinn der Hämolyse zurückschlagen, kann es zu Rezidiven kommen. Neuerdings gelang es im Hoechster Laboratorium einen gegen Gold gefestigten Streptokokken zu gewinnen, der als echt arzneifest anzusprechen war. Die Versuche mit diesem Stamm erlaubten eine interessante Analyse der Goldwirkung und eine Differenzierung verschiedener Typen von Goldverbindungen. Der goldfeste Stamm war noch akridinempfindlich.

Arzneifestigkeit und ihr Äquivalent, der Virulenzsturz, sind beides Erscheinungen, die neben ihrer methodischen Bedeutung der Chemotherapie bestimmte, nicht immer leicht erfüllbare Aufgaben stellen. Die wichtigste und schwerste ist die Forderung nach der *Sterilisatio magna*, die zu *Ehrlichs* Zeiten wie heute das grundlegende Gebot für eine erfolgreiche Chemotherapie auch der bakteriellen Infektionen ist.

Die Immunität bei Protozoen-Erkrankungen

DR. WALTER KIKUTH

Aus dem Chemotherapeutischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG., Werk Elberfeld

Im Gegensatz zu der Immunität bei bakteriellen Erkrankungen, deren Gesamtbild durch die Forschungsergebnisse, wenn auch nicht gleichmäßig, so doch im wesentlichen abgerundet ist, erscheint das Gebiet der Immunität bei den durch Protozoen hervorgerufenen Krankheiten heute noch sehr problematisch und unübersichtlich. Wir sind nicht nur über einige Grundfragen auf diesem Gebiete schlecht oder gar nicht unterrichtet, sondern auch diejenigen Fragen, deren Beantwortung leicht erschien, sind durch die widersprechenden Forschungsergebnisse einzelner Autoren der Erkenntnis nicht vollständig erschlossen. Die Gründe hierfür sind mannigfaltiger Natur und liegen vor allen Dingen in der Eigenart der Protozoen als selbständige tierische Lebewesen und in dem durch sie hervorgerufenen charakteristischen Infektionsverlauf, der in vieler Hinsicht ein anderer ist als der, den wir bei bakteriellen Infektionen zu sehen bekommen. Um die Schwierigkeiten zu erkennen, die sich bei der Bearbeitung des Immunitätsproblems der Protozoenerkrankung in den Weg stellen, müssen wir eine Reihe charakteristischer Eigenschaften der Protozoen näher beleuchten, die gleichzeitig erkennen lassen, daß die aus der Bakteriologie gewonnenen Resultate sich nicht ohne weiteres auf die Protozoenerkrankung übertragen lassen.

Ein großer Unterschied zwischen den Bakterien und den Protozoen besteht schon darin, daß sich die Protozoen im Gegensatz zu den Bakterien, abgesehen von wenigen Ausnahmen, auf künstlichen Nährböden nicht züchten lassen und auch in den wenigen Fällen, wo eine Züchtung der Protozoen gelungen ist, handelt es sich um Kulturen, die mit Reinkulturen von Bakterien nicht zu vergleichen sind. So gelingt

es zwar, die *Amoeba histolytica*, den Erreger der Amöbendysenterie, auf künstliche Nährböden zu übertragen und zu züchten. Es ist aber bisher nicht gelückt, diesen Erreger von den gleichzeitig vorhandenen Begleitbakterien zu trennen, die anscheinend für die Lebens-, Vermehrungsfähigkeit und Virulenz der Amöben notwendig sind. Der Unterschied zwischen einer solchen Mischkultur von Amöben mit verschiedenen Bakterienstämmen und einer Reinkultur von Bakterien ist ohne weiteres klar.

Bei einer anderen Protozoenerkrankung des Menschen, beim Kala-azar, einer in Indien und China sehr verbreiteten Infektionskrankheit, gelingt es wohl den Erreger dieser Krankheit, die *Leishmania donovani*, in Reinkulturen zu erhalten, aber derselbe erleidet dabei derartige morphologische Veränderungen, daß die Kulturformen mit den im Organismus vorkommenden Parasiten überhaupt keine Ähnlichkeit mehr aufweisen. Daß sich mit einer derartig weitgehenden morphologischen Veränderung gleichzeitig der ganze Stoffwechsel der Parasiten verändert, ist wohl mit Sicherheit anzunehmen.

Ein weiteres erschwerendes Moment ist der Umstand, daß sich eine ganze Reihe von Protozoen streng an ihren Wirtsorganismus angepaßt haben, daß sie abgesehen von ihren natürlichen Überträgern außerhalb ihres Wirtsorganismus überhaupt nicht existieren können. So läßt sich die wichtigste menschliche Protozoenerkrankung, die Malaria, auf andere Tiere nicht übertragen. Und auch bei den unter den verschiedensten Tierarten verbreiteten Piroplasmosen kann man eine vollkommene Anpassung für den betreffenden Wirtsorganismus feststellen.

Andere Protozoen lassen sich zwar auf andere Tierarten übertragen, rufen aber bei diesen ganz andere Krankheitsbilder hervor, die mit der eigentlichen Erkrankung des ursprünglichen Wirtsorganismus gar keine Ähnlichkeit mehr aufweisen. Überimpft man z. B. den Erreger der Nagana, einer afrikanischen Tierseuche, das *Tryp. brucei*, auf Mäuse, so

vermehren sich die Trypanosomen fast ausschließlich im Blut; es kommt in kurzer Zeit zu einer Überschwemmung des Blutes mit Trypanosomen, zu einer Art von „Trypanosomensepsis“, und die Tiere erliegen in kurzer Zeit der Infektion. Wesentlich anders verläuft die Infektion, wenn man denselben Erreger auf Kaninchen überimpft. Auch hier kommt es zu einer Vermehrung der Trypanosomen, aber nicht vorwiegend im Blut, sondern vor allen Dingen im Gewebe, wo sie zu schweren Störungen und Schädigungen führen. Die Krankheit nimmt einen mehr chronischen Verlauf, aber die Infektion endet ebenfalls mit dem Tode der Tiere. Wird schließlich das *Tryp. brucei* auf Schafe oder Ziegen übertragen, so kommt es in der ersten Zeit zu einer Vermehrung der Trypanosomen, jedoch heilt die Krankheit in den meisten Fällen ganz von selbst aus.

Natürlich kann man derartige Schwankungen im Infektionsverlauf bei verschiedenen Tierarten auch bei Bakterien beobachten, aber bei den Protozoen trifft man sie in verstärktem Maße an. Dasselbe gilt von Virulenzschwankungen und der bei den einzelnen Protozoenarten so charakteristischen Veränderungsmöglichkeit ihrer biologischen Eigenschaften. Wie man ganz besonders häufig bei Trypanosomen beobachten kann, genügen schon ganz geringfügige Änderungen der Umgebung, um wesentliche Modifikationen der biologischen Eigenschaften hervorzurufen. So kann man z. B. die verschiedenen während eines Infektionsverlaufes auftretenden Rezidiv-Trypanosomenstämme biologisch voneinander trennen. Eine einzige Tierpassage genügt unter Umständen, um die Pathogenität für eine andere Tierart des betreffenden Trypanosomenstammes vollständig zum Erlöschen zu bringen.

Während man bei Bakterien die natürlichen Übertragungsbedingungen auch im Laboratorium nachahmen kann, gelingt das bei den Protozoen nur sehr selten, da sie in den allermeisten Fällen durch Zwischenwirte übertragen werden, deren Haltung und Züchtung im Laboratorium oft nur schwer möglich ist.

Aus allen diesen angeführten Gründen ist mit Leichtigkeit zu ersehen, auf welche Schwierigkeiten man stößt, wenn man sich mit Immunitätsfragen der Protozoenerkrankung beschäftigt.

Man ist vielfach auf Hypothesen und Analogieschlüsse angewiesen, und nur in wenigen Fällen ist es gelungen, eindeutige Antworten zu erhalten.

Hinzu kommt noch, daß die Immunität biologisch keinen einheitlichen Zustand des Organismus darstellt, sondern durch mannigfaltige Ursachen bedingt ist und infolge der biologischen Variationsmöglichkeiten der Protozoen, die in Wechselbeziehungen zu dem Organismus treten, noch weiter kompliziert wird.

Wenn wir uns jetzt den eigentlichen Immunitätsfragen zuwenden, so müssen wir von vornherein feststellen, daß eine natürliche Immunität, wie sie sich gegen Bakterien durch das Vorhandensein von bakteriziden Kräften im Serum von gesunden Organismen nachweisen läßt, gegen Protozoen in diesem Sinne nicht beobachtet wird. Ebenso wie bei den Bakterien stellt zwar bei den Protozoen die Empfänglichkeit des Organismus nicht die Regel, sondern die Ausnahme dar, aber die Unempfindlichkeit ist nicht durch eine natürliche Immunität bedingt, denn es lassen sich keine Antikörper nachweisen, sondern durch eine natürliche Resistenz.

Was die erworbene Immunität anbetrifft, die ja erst im Verlauf der Infektion zustande kommt, so ist auch diese Frage bei den Protozoen komplizierter als bei den Bakterien. Eine erworbene vollständige oder absolute Immunität, wie sie bei einigen bakteriellen Erkrankungen nach Überstehen der Infektion zustande kommt, gibt es bei den Protozoen überhaupt nicht. Eine einzige Ausnahme macht vielleicht das Küstenfieber der Rinder, eine in Südafrika weitverbreitete Krankheit, die durch eine Piroplasmosenart hervorgerufen wird, sehr stürmisch verläuft, eine außerordentlich hohe Letalität aufweist und angeblich eine absolute Immunität für

das ganze Leben hinterläßt. Aber auch diese Krankheit läßt nach Reichenow noch eine andere Deutung zu, nämlich die einer begrenzten Vermehrungsfähigkeit der Parasiten, ähnlich wie es bei manchen Darmkokzidien der Fall ist. Die vollständige und dauernde Immunität kann schließlich durch das Persistieren latenter Krankheitserreger vorgetäuscht werden.

Von einer Giftimmunität kann bei Protozoen zur Zeit ebenfalls nicht die Rede sein, schon deshalb nicht, weil Toxine bei Protozoen hypothetisch wohl angenommen werden müssen, aber mit wenigen Ausnahmen nicht bewiesen sind.

Trotz alledem können wir bei den Protozoenerkrankungen sehr interessante „Immunitätsphänomene“ beobachten, die am charakteristischsten in der sogenannten „labilen Infektion“ oder „*immunitas non sterilisans*“ zum Ausdruck kommen.

Es würde zu weit führen, wollte ich hier einzelne Ergebnisse der verschiedenen Infektionskrankheiten aneinanderreihen. Ich will deshalb versuchen, die Immunitätserscheinungen zusammenzufassen und gleichzeitig die verwirrenden Einzelheiten nach Möglichkeit von einem gemeinsamen Gesichtspunkt zu betrachten.

Die pathogenen Protozoen des Darms (Amöben, Ziliaten, Flagellaten) sollen in den Kreis dieser Betrachtung nicht hereingezogen werden, da über Immunitätsvorgänge bei diesen Parasiten so gut wie gar nichts bekannt ist. Dasselbe gilt von dem Erreger des Kala-azar, der *Leishmania donovani*, der unbehandelt fast immer einen letalen Ausgang der Krankheit herbeiführt.

Bei dieser Betrachtungsweise kann man die Blutprotozoen in zwei große Gruppen teilen. Zu der ersten Gruppe gehören diejenigen Protozoen, die sich nicht auf den Blutkreislauf beschränken, sondern sich auch im Gewebe ihres Wirtsorganismus entwickeln und krankhafte Erscheinungen hervorrufen. Hierher gehören z. B. die pathogenen Trypanosomen. Zu der anderen Gruppe können die eigentlichen Blutprotozoen gerechnet werden, die entweder in den roten Blutkörperchen

schmarotzen, wie die Malaria-parasiten und die im Tierreich so viel verbreiteten Piroplasmen und diejenigen, die im Blutplasma sich vermehren, wie die nicht pathogenen Trypanosomen.

Bei der ersten Gruppe kommt es im Kampfe des Organismus gegen den Parasiten zu Immunitätsreaktionen, die aber in der Regel zu schwach sind, um vollkommen die Überhand zu gewinnen, so daß schließlich der Kampf mit einem vollständigen Siege des Parasiten über den Organismus endet. Bei der zweiten Gruppe bildet sich dagegen die eigenartige Form der sogenannten „labilen Infektion“ oder „immunitas non sterilisans“ aus, ein Gleichgewichtszustand zwischen Organismus und Parasitismus, der sich über Jahre hinaus ausdehnen und schließlich in vollkommene Heilung übergehen kann, wenn es nicht durch Schädigungen irgendwelcher Art zu einer Aktivierung des Krankheitsprozesses kommt.

Der Infektionsverlauf bei den pathogenen Trypanosomen, den Erregern der menschlichen Schlafkrankheit und bei einer Reihe über die ganze Welt verbreiteter Tierseuchen vollzieht sich im natürlichen Wirtsorganismus folgendermaßen:

Nach einer gewissen Inkubationszeit treten die pathogenen Trypanosomen im peripheren Blut des infizierten Organismus auf und vermehren sich hier bis eine gewisse Menge erreicht ist.

Ganz plötzlich erfolgt dann ein Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blut. Man findet sie weder bei mikroskopischer Untersuchung, noch gelingt es sie nachzuweisen, wenn man das Blut auf empfängliche Tiere überimpft. Das Verschwinden der Trypanosomen ist bedingt durch das Auftreten eines immunisatorischen Reaktionsproduktes des Organismus, über dessen Natur so gut wie nichts bekannt ist, dessen trypanolytische Eigenschaften aber *in vivo*, wie *in vitro* nachgewiesen werden können.

Eine Anzahl von Trypanosomen aber entgeht gewöhnlich der Vernichtung, sei es, daß die Trypanosomen von den Anti-

körpern in den inneren Organen nicht erreicht werden, sei es, daß einzelne Exemplare eine Widerstandsfähigkeit gegen den Antikörper besitzen.

Diejenigen Trypanosomen, die sich gegenüber dem Antikörper als widerstandsfähig erwiesen haben, vermehren sich von neuem und bilden einen sogenannten Rezidivstamm. Der im Serum vorhandene, unter der Wirkung des Ausgangsstammes gebildete Antikörper, behält zwar noch längere Zeit seine trypanolytischen Eigenschaften gegenüber dem Ausgangsstamm, ist aber nahezu wirkungslos gegen den neu gebildeten Rezidivstamm. Haben sich nun die modifizierten Trypanosomen des Rezidivstammes bis zu einem gewissen Grad vermehrt, so entsteht als Reaktion des Organismus ein neuer Antikörper gegen den inzwischen gebildeten Rezidivstamm, der imstande ist, die Hauptmasse der Parasiten zu vernichten. Aber wieder bleiben einige Individuen übrig, die sich gegen den neuen Antikörper als widerstandsfähig erweisen, die sich von neuem vermehren und auf diese Weise einen zweiten Rezidivstamm bilden.

Dieser zyklische Krankheitsverlauf mit periodischem Auftreten und Verschwinden der Trypanosomen (trypanolytische Krisen) kann sich wie bei der menschlichen Schlafkrankheit über Jahre erstrecken. Die Trypanosomen bilden wieder und immer wieder neue Rezidivstämme und der Organismus antwortet ein jedes Mal mit der Bildung eines neuen trypanolytischen Antikörpers. Die Fähigkeit der Trypanosomen zur Bildung von neuen Modifikationen und die des Organismus zur Erzeugung neuer Antikörper scheint unbegrenzt zu sein.

Mit der Zeit aber unterliegt der Organismus in der Regel der Infektion. Die Widerstandsfähigkeit des Organismus ermattet nach jedem Angriff eines neuen Rezidivstammes immer mehr, und die Trypanosomen, die sich ja nicht ausschließlich in der Blutflüssigkeit vermehren, sondern auch dort, wo sie von den Antikörpern nicht oder wenig angegriffen werden, erlangen die Überhand.

Im Prinzip ganz anders verläuft die Immunitätsreaktion bei den apathogenen Trypanosomen. Das Tryp. lewisi der Ratte z. B. vermehrt sich zu Beginn der Infektion im peripheren Blut ziemlich lebhaft, wobei die verschiedenartigsten Teilungsformen entstehen. Hat die Vermehrung einen gewissen Grad erreicht und finden sich die Trypanosomen ziemlich zahlreich im peripheren Blut, so sistiert plötzlich die weitere Vermehrung, die Teilungsformen verschwinden jedoch nicht vollkommen aus dem Blut und ihre Zahl nimmt erst ganz allmählich ab. Wie *Taliaferro* zeigen konnte, beruht das Aufhören der Vermehrung auf der Entstehung eines Reaktionsproduktes im Blut, das die Eigenschaft hat, lediglich die Vermehrung der Trypanosomen zu verhindern, ohne sie sonst irgendwie zu schädigen.

Für diesen eigenartigen Antikörper, der die Teilungsfähigkeit der Trypanosomen aufhebt, und sich auch durch andere besondere Eigenschaften auszeichnet, hat *Taliaferro* neuerdings den Namen **Ablastin** vorgeschlagen.

Gemeinsam mit *Regendanz* konnte ich die Angaben von *Taliaferro* bestätigen und zeigen, daß das vermehrungsverhindernde Reaktionsprodukt (Ablastin) in erster Linie von der Milz gebildet wird. Exstirpiert man nämlich Ratten zu Beginn der Infektion die Milz, so kann man des öfteren beobachten, daß sich die Vermehrung der Trypanosomen über einen viel längeren Zeitraum fortsetzt, und daß das apathogene Tryp. lewisi in vielen Fällen einen pathogenen Charakter annimmt.

Die nun zu besprechende Immunität der sogenannten labilen Infektion beruht auf einem Gleichgewichtszustand zwischen Wirtsorganismus und Parasitismus, der sich im Laufe der Infektion entwickelt und jahrelang fortbestehen kann. Der Organismus bildet nur soviel Abwehrkräfte, wie unbedingt nötig sind, um die Parasiten in Schranken zu halten, d. h. es findet keine nennenswerte Vermehrung der Parasiten statt.

In solch einem Stadium einer ausgebildeten labilen Infektion ist es mitunter außerordentlich schwer, die Parasiten

im Wirtsorganismus nachzuweisen. Überimpft man aber in einem solchen Falle das Blut eines anscheinend „sterilen“ Tieres auf andere Tiere der gleichen Art, so gelingt es mit Leichtigkeit namentlich bei jungen Tieren eine regelrechte Infektion zu erzeugen, die wieder ihrerseits nach Überstehen der akuten Anfälle in das Stadium der labilen Infektion übergeht. Versucht man dagegen Tiere im Stadium der labilen Infektion zu reinfizieren, so gelingt das nicht; es kommt zu keiner Vermehrung der Parasiten.

Es ist ja ganz allgemein bekannt, daß das Retikuloendothel bei vielen Infektionen am Abwehrkampfe beteiligt ist, und es scheint so, als ob es bei den intrakorpuskulären Blutparasiten die Hauptabwehrrolle spielt, indem es mit Hilfe der Phagozytose eine uferlose Vermehrung der Parasiten verhindert und das labile Gleichgewicht aufrecht erhält. Bei der Piroplasmose z. B. findet man oft große mononukleäre Zellen, die den infizierten Erythrozyten mitsamt ihren Parasiten phagozytiert haben.

Innerhalb des Retikuloendothels scheint der Milz eine besondere Rolle zuzukommen, wie sie in diesem Maße von irgendeinem anderen Organ nicht übernommen werden kann.

Durch Entfernung dieses Abwehrorgans, z. B. durch Milzextirpation kann man zeigen, daß die Infektion sehr viel akuter verläuft, und daß es überhaupt nicht zur Bildung einer labilen Infektion kommt.

Auf der anderen Seite kann man eine bestehende labile Infektion durch Milzextirpation zu ungünsten des Organismus aus dem Gleichgewicht bringen, so daß es zu schweren Rezidiven kommt, die oft mit dem Tode enden.

Gonder und *Rodenwaldt* sind die ersten gewesen, die auf die Schutzrolle der Milz bei der Hundepiroplasmose hingewiesen haben. Sie konnten durch Milzextirpation die labile Infektion aus dem Gleichgewichtszustand bringen.

Mit Hilfe der Milzextirpation gelingt es auch unter Umständen, bisher unbekannte Piroplasmen zu entdecken, weil

die spärlichen Parasiten, die bei mikroskopischer Untersuchung übersehen wurden, sich rapid vermehren (*Regendanz* und *Kikuth*).

Wenden wir uns jetzt der Malaria, der wichtigsten menschlichen Protozoenkrankheit zu, so liegen die Verhältnisse ähnlich.

Gewisse Anzeichen sprachen schon früher dafür, daß bei der Malaria das Retikuloendothel und vor allen Dingen die Milz bei dem Zustandekommen einer latenten Malaria mitbeteiligt sind. Der Milztumor, der sich regelmäßig während der akuten Malariainfektion entwickelt, kann hier zu einem gewissen Grade als Hypertrophie eines Immunitätsorgans betrachtet werden. Um mit *Mühlens* zu sprechen, bedeutet das Fehlen der Milz für den Körper das Fehlen eines Abwehrorgans. Es ist nämlich schon öfters beobachtet worden, daß beim Menschen nach Milzextirpation schwere und auch tödlich verlaufende Malariarezidive aufgetreten sind.

Der häufige Befund von Pigment der Malariaparasiten in den großen mononukleären Leukozyten und in den Endothelzellen gibt hierfür eine weitere Stütze. Ferner ist es eine alte Beobachtung, daß chininresistente und besonders schwer verlaufende Fälle von Malaria sich durch geringe Milzschwellung auszeichneten, während oft ganz leichte Fälle einen erheblichen Milztumor aufweisen. Auch bei künstlich mit Malaria infizierten Paralytikern kann man ähnliche Beobachtungen machen.

Diese Erfahrungen und Beobachtungen bei der menschlichen Malaria fanden ihre experimentelle Begründung und Stütze durch die Untersuchungen von *Gonder* und *Rodenwaldt* bei Affenmalaria. Diese Autoren infizierten Affen mit *Plasmodium kochi*, einer dem Tertianaparasiten sehr nahe verwandten Art, entmilzten die Tiere und fanden nun einen viel stärkeren Verlauf der Infektion.

An der Bedeutung der Milz als Immunitätsorgan war wohl auch bei der menschlichen Malaria nicht zu zweifeln,

und das Wort von *Robert Koch*, daß eine große Milz als Zeichen einer relativen Immunität aufzufassen ist, bestand wohl zu Recht.

Wie sich aber die Immunitätsverhältnisse im einzelnen abspielen, und auf welche Weise die Milz eine derartige Schutzwirkung ausübt, das ist erst durch neuere Untersuchungen zum Teil geklärt worden, obgleich eine ganze Reihe von Fragen der weiteren Lösung harrt.

Die Vogelmalaria, die für die Klärung vieler Fragen der menschlichen Malaria herangezogen wird, hat auch auf immunbiologischem Gebiet wichtige Aufschlüsse gegeben. *Cannon* und *Taliaferro*, die Kanarienvögel mit *P. cathemerium* infiziert hatten, haben zeigen können, daß die Zahl der aus jedem Schizonten bei jeder Schizogonie entstehenden Parasiten im Verlauf der Infektion konstant bleibt, daß aber mit Fortschreiten der Infektion, namentlich im Stadium der Krise nach Aufhören der akuten Anfälle, eine immer größere Anzahl der neugebildeten Schizonten von den Zellen des Retikuloendothels phagozytiert werden. So kommt es schließlich, daß die Zahl der neugebildeten Schizonten und die Zahl der phagozytierten Parasiten sich gegenseitig die Waage halten, was klinisch in Form der latenten Malaria zum Ausdruck kommt.

Die Beobachtungen von *Knowles* und *Das Gupta* bei der menschlichen Malaria quartana sprechen ebenfalls in diesem Sinne, und schließlich können die umfangreichen histologischen Untersuchungen von *Taliaferro* bei Affen, die mit einer der menschlichen Malaria quartana sehr ähnlichen Parasitenart, dem *Plasmodium brasiliense*, infiziert waren, nicht anders gedeutet werden.

Es ist jedoch noch nicht recht klar, wodurch diese gesteigerte Aktivität des retikuloendothelialen Systems hervorgerufen wird. Antikörper sind mit Sicherheit weder bei der Vogelmalaria noch bei der menschlichen Malaria nachgewiesen worden. Trotzdem ist es nicht ausgeschlossen, daß solche vorhanden sind, nur ist es mit unserer Technik bisher nicht möglich gewesen, sie nachzuweisen.

Es handelt sich bei dieser zellulär in Erscheinung tretenden Abwehrreaktion um eine spezifische Immunitätsreaktion und nicht um eine unspezifische Stimulation der Makrophagen. Denn diejenigen Individuen, die gegen eine Malariaparasitenart immun sind, können höchst empfänglich für eine andere Art sein (*S. P. James* und andere Autoren). Bei Vögeln mit verschiedenen Arten von Malariaparasiten habe ich und andere Autoren das experimentell einwandfrei beweisen können.

Mit dieser Immunitätsreaktion können auch ohne weiteres die bei Malaria so häufig beobachteten Rezidive in Einklang gebracht werden. Sei es, daß mit der Zeit die unter dem spezifischen Reiz der Parasiten gebildete Hyperaktivität des Retikuloendothels nachläßt, sei es, daß der Gleichgewichtszustand zwischen Parasitismus und Organismus durch Schädigungen irgendwelcher Art erschüttert wird. Diese Hypothese ist zuerst von *Roß* verfochten worden, sie ist auf dem breiten Grund der Praxis aufgebaut und gewinnt durch die Forschung der letzten Zeit immer mehr an Boden.

Wir sind uns darüber alle einig, daß eine Immunität bei der Malaria vom Organismus gebildet wird, und daß sie in der Malariaepidemiologie eine große Rolle spielt, denn sonst würden von der großen Anzahl Menschen, die Jahr für Jahr an der Malaria erkranken und zum größten Teil nicht behandelt werden, die meisten sterben.

Zur vergleichenden Betrachtung chemotherapeutisch wirksamer Elemente

PROF. DR. H. SCHMIDT

Aus dem Chemischen Forschungslaboratorium der I. G. Farbenindustrie AG., Werk Elberfeld

Die außerordentliche Bereicherung, welche unsere Kenntnis von den chemotherapeutischen Fähigkeiten der anorganischen Grundstoffe in den letzten Jahrzehnten erfahren hat, hat zu Versuchen geführt, gemeinsame Gesichtspunkte, Gesetzmäßigkeiten, besonders einen Zusammenhang mit den chemischen Eigenschaften zu finden.

Zwei Erscheinungen verdienen zunächst besonderes Interesse.

Verschiedentlich ist versucht worden, eine Beziehung zum periodischen System der Elemente herzustellen, wie es für die pharmakologischen Eigenschaften der Grundstoffe schon lange geschieht. Es ist sicher von großem Interesse, zur Charakterisierung eines Grundstoffs den chemischen und physikalischen Merkmalen neben den pharmakologischen auch die chemotherapeutischen Fähigkeiten hinzuzufügen, die teils das bunte Bild der Verschiedenheiten noch bunter gestalten, teils aber auch Beziehungen zur chemischen Gruppierung erkennen lassen.

Solche Betrachtungen und Übersichtstabellen sind von *Walbum*¹⁾, *Levaditi*²⁾, *Kleeberg*³⁾ und besonders eingehend von *Fischl*⁴⁾ in der letzten Zeit veröffentlicht worden.

Es ist auffallend, daß chemotherapeutisch aktive Elemente in einzelnen Gruppen des periodischen Systems gehäuft

¹⁾ *Walbum*: Z. Imm.-Forsch., Bd. 42, S. 32 (1925). Bd. 47, S. 213 (1929).

²⁾ *Levaditi*: Compt. rend., Bd. 193, S. 404 (1931). Bd. 185, S. 91 (1927). C. r. Soc. Biol. Bd. 97, S. 167 (1927). (Levaditi findet einen Zusammenhang mit dem elektrochemischen und analytischen Verhalten der von ihm geprüften Elemente.)

³⁾ *J. Kleeberg*: Klin. Wschr. 1931, S. 500.

⁴⁾ *Fischl*: Z. angew. Chemie 1931, S. 932. Z. f. Hyg., Bd. 114, S. 281 (1932).

auftreten, z. B. in Gruppe I b Cu, Ag, Au, in Gruppe V b As, Sb, Bi. Ja es hat das periodische System ähnlich wie es zur Auffindung neuer Elemente geführt hat, bei der Auffindung und der Suche nach neuen Heilwirkungen richtunggebend mitgewirkt; ich erinnere nur an den Weg von As zum Sb und Bi und die Versuche mit Vanadium in der Abteilung a der V-Gruppe.

Die Schwierigkeiten von Zusammenstellungen wie die oben zitierten liegen einmal darin, daß die klinischen Erfahrungen bei natürlichen Infektionskrankheiten und das riesige Material aus der systematischen Erprobung der Grundstoffe bei verschiedenen experimentellen Infektionen nicht immer ohne weiteres vergleichbar sind, ferner aber auch noch in einem anderen Grund, und hier komme ich zu der zweiten Erscheinung, die den vorliegenden Ausführungen zugrunde gelegt werden soll.

Nicht bei allen Elementen kann man von einer therapeutischen Eigenart sprechen, die in allen Verbindungen in mehr oder weniger deutlicher Form zum Ausdruck kommt.

Charakteristisch für die Veränderlichkeit der biologischen Funktionen ist z. B. der Stickstoff, der in elementarer Form ca. 80 % der Atemluft ausmacht, im Ammoniak, Stickoxydul, den Nitriten, Nitraten auf die verschiedenartigste Weise auf den Organismus einwirkt und vollends als Bestandteil mehr oder weniger komplizierter organischer Moleküle in den Eiweißstoffen, Hormonen, Purinen, Alkaloiden, synthetischen Heilstoffen verschiedenartigste, eigenartige physiologische und therapeutische Wirkungen hervorzurufen vermag.

Als Gegenbeispiel von Grundstoffen, die in allen Verbindungen ihre eigenartige therapeutische Funktion dem Grundcharakter nach bewahren, seien von chemotherapeutischen Mitteln Quecksilber und Wismut und von den pharmakologisch wirkenden Substanzen das Kalzium genannt.

Es ist bemerkenswert, daß im allgemeinen das starke Beibehalten des therapeutischen Grundcharakters in den Verbindungen den ausgesprochenen Metallen eigentümlich ist.

Sehr geeignet zu Betrachtungen dieser Art ist die schon genannte Gruppe Vb des periodischen Systems, und zwar besonders die auf einander folgenden Elemente Arsen, Antimon, Wismut, die in den letzten Jahrzehnten zum eisernen Bestand in der Therapie der Infektionskrankheiten geworden sind und experimentell-chemotherapeutisch eingehend erforscht sind.

Wismut, das als Element und in den Verbindungen den metallischen Charakter unter diesen drei Elementen am ausgeprägtesten hat, bewahrt zugleich seinen chemotherapeutischen Grundcharakter in allen Verbindungen am meisten. Die Zahl der chemischen Verbindungen ist im Vergleich zu den anderen beiden Elementen dadurch begrenzt, daß nur die dreiwertigen anorganischen Verbindungen beständig sind und daß Wismut nur in sehr beschränktem Maße Kohlenstoffverbindungen zu bilden vermag.

Die Aufgabe der Arzneimittelsynthese bestand darin, Verbindungen des Wismuts zu schaffen, welche durch ihre chemischen und physikalischen Eigenschaften gestatteten, die Wirkung dieses Heilmittels für Spirochäten unter günstigen Resorptions- und Ausscheidungsverhältnissen möglichst frei von Nebenwirkungen zum Ausdruck kommen zu lassen.

Gänzlich anders liegen die Verhältnisse beim Arsen. Die metallischen Eigenschaften treten nur untergeordnet zutage, die Zahl und Mannigfaltigkeit der Verbindungen ist eine sehr große und wird durch die Fähigkeit, Verbindungen der verschiedensten Art mit Kohlenstoffmolekülen einzugehen, ins Unerschöpfliche gesteigert.

Dem entspricht die Variabilität der pharmakologischen und therapeutischen Eigenschaften.

Von den anorganischen Verbindungen weisen arsenigsäure und arsensaure Salze geringe Unterschiede in der Toxizität auf, therapeutisch werden hauptsächlich die ersten als Roborantia u. a. benutzt.

Die volle Vielgestaltigkeit offenbart sich aber erst in den Kohlenstoffverbindungen des Arsen. Einerseits lassen sich die Giftwirkungen des Arseniks, Arsenwasserstoffs, Arsentrichlorids bis zu den verheerenden Wirkungen eines Gaskampfstoffs steigern, andererseits die Toxizitätsherabsetzung, die in der Arsensäure erreicht ist, bis zu der Ungiftigkeit der aliphatischen Arsinsäuren (Kakodylate, Solarson u. a.) bei Erhaltung der roborierenden Wirkung vermindern.

Am wichtigsten ist die chemotherapeutische Funktion. Die Entdeckung *Uhlenhuth's* von der Heilbarkeit experimenteller Spirochäten durch Atoxyl und danach die Steigerung und Spezifizierung dieser Funktion im Salvarsan durch *Ehrlich* zeigte eine solch einzigartige Wirkung, daß daneben der seit altersher bekannte, immer wieder hervorgeholte und schließlich nahezu in Vergessenheit geratene Brauch, anorganische Arsenpräparate, arsenige Säure, Auripigment usw. zur Luestherapie zu verwenden¹⁾, verblaßte.

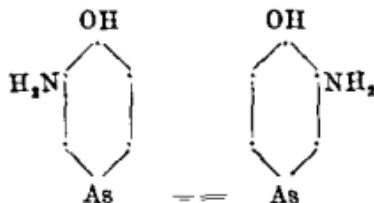
Nie hätte man vermuten können, daß die schwache in der arsenigen Säure vorhandene, gleichsam schlummernde antiluetische Wirkung, die in Räucherungen, äußeren Applikationen, peroralen Gaben versucht wurde, durch Arzneimittelsynthese zu solcher Steigerung gebracht werden konnte. Die Auffindung der Luesheilwirkung des Salvarsan usw. war daher mit Recht als neue Entdeckung anzusehen, gleich bedeutsam in ihren unmittelbaren praktischen Auswirkungen als auch in ihrer richtunggebenden Wirkung für die Forschung.

Doch ist es für unsere Betrachtungen wichtig, darauf hinzuweisen, daß der Grundcharakter der Wirkung, wenn auch nur schwach, dem Arsen in seinen einfachen anorganischen Verbindungen zukommt und daß die Wirkung des Salvarsan, Spirocid usw., die Variierbarkeit und Spezifizierbarkeit der

¹⁾ *E. Baader*: Die Arsentherapie der Syphilis bis zur Salvarsanära. Inaug.-Diss., Berlin 1918. Vgl. auch Schloßberger in Kolle-Zieler, Handbuch der Salvarsantherapie.

Arsenwirkung durch Substituenten des Benzolkerns als eine Steigerung, Modifizierung, Spezifizierung der im Grundstoff schwach vorhandenen antiluetischen Wirkung anzusehen ist. Ähnliches gilt für die trypanozide u. a. Wirkungen.

Das läßt sich in Parallele mit manchen chemischen Eigenschaften stellen. Für den Habitus der Monoarylarsenverbindungen — nur diese haben für die Therapie praktische Bedeutung¹⁾ — ist der Kohlenstoffteil, der „organische“ Teil des Moleküls prädominierend, sowohl für die physikalischen als auch für die chemischen Eigenschaften. Das in seiner metallisch aussehenden Modifikation unlösliche elementare Arsen nimmt, an zwei substituierte Benzolkerne gebunden²⁾), in der Salvarsanbase

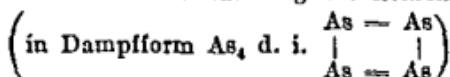


völlig an den Eigenschaften teil, welche die Substituenten des Benzolkerns, dem Molekül erteilen: Löslichkeit in Alkalien und Säuren, Angreifbarkeit für chemische Einwirkungen (Chemozeptoren).

Die Möglichkeiten, welche dadurch der Arzneimittelsynthese gegeben sind, werden ergänzt durch die Modifizierbarkeit des anorganischen Restes (-AsO₃H₂, -As=As-, -AsO

¹⁾ Bei den Di- und Triarylarsenverbindungen, in denen Arsen an 2 bzw. 3 Benzolkerne gebunden ist, ist das Überwiegen des „organischen“ Charakters naturgemäß noch ausgeprägter. In diesen Verbindungen fällt die chemo-therapeutische Wirkung jedoch stark ab.

²⁾ Das Salvarsan ist als Abkömmling des elementaren Arsen



anzusehen, wie die aromatischen Arsinsäuren C₆H₅ · As O₃H₃ als Abkömmlinge der Arsensäure As O₄H₃ usw.

usw.) mit ihren bekannten chemotherapeutischen Auswirkungen.

Antimon nimmt die Mittelstellung zwischen Arsen und Wismut ein. Die metallischen Eigenschaften des Elements und seiner Verbindungen sind weit ausgeprägter als beim Arsen, die Zahl seiner Verbindungen ähnelt derjenigen des Arsens. Vom Arsen ist es verschieden durch die kolloidale Natur seiner Sauerstoffverbindungen, ihre Unlöslichkeit in Wasser und ähnelt darin dem Wismut, von dem es sich wieder durch die Beständigkeit der fünfwertigen Verbindungen unterscheidet.

Der chemotherapeutische Grundcharakter kommt dem Antimon in viel ausgeprägterer Form als dem Arsen bereits in seinen anorganischen Verbindungen zu. Die trypanozide Fähigkeit lässt sich an der infizierten Maus mit fein verteiltem metallischem Antimon, mit Antimontrioxyd parenteral scharf nachweisen. Besser geeignet als diese unlöslichen Verbindungen ist ein wasserlösliches Salz. Da dreiwertiges Antimon kein dem Natr. arsenicosum entsprechendes wasserlösliches Salz bildet, war man anfangs allein auf das saure weinsaure Kalium (Brechweinstein¹⁾ angewiesen, mit dem zuerst die trypanozide Wirkung

¹⁾ Diese Verbindung des Antimonoxys mit der Weinsäure wird in chemischem Sinne nicht als „organische“ Verbindung angesehen. Antimon ist hier durch Vermittlung von O an das organische Molekül gebunden. (Vgl. Schmidt: Z. angew. Chemie 1930, S. 965.) Organische Antimonverbindungen im chemischen Sinne sind solche, in denen Antimon direkt an Kohlenstoff gebunden ist, z. B. Phenylstibinsäure $C_6H_5 \cdot SbO_3H_2$ bzw. genauer $C_6H_5 \cdot SbO_2 \cdot NH_2O$.

Der chemische Sprachgebrauch unterscheidet sich hierin von dem des Mediziners, der von organisch gebundenem Eisen, Kalzium, Phosphor spricht, wenn es sich um Salz- oder Komplexbildung mit organischen Verbindungen, nicht aber um Bindung der Elemente an Kohlenstoff handelt.

In Komplexverbindungen sind einzelne Reaktionen des Antimons je nach dem Grade der Komplexbindung mehr oder weniger verdeckt, dagegen die Ausfällung durch Schwefelwasserstoff als rotes Antimonsulfid erhalten. Phenylstibinsäure aber (ähnlich z. B. Stibenyl usw.) wird durch Schwefelwasserstoff nicht zerlegt, sondern bildet eine gelbe Verbindung.

Sobietet das Verhalten gegen Schwefelwasserstoff eine charakteristische Unterscheidungsreaktion zwischen anorganischen und eigentlich organischen Antimonverbindungen.

des Antimons festgestellt wurde. In der Form dieses einfachen Komplexsalzes hat das dreiwertige Antimon bekanntlich die erste weit verbreitete Anwendung bei tropischen Infektionskrankheiten gefunden.

Ein deutlicher Unterschied besteht zwischen drei- und fünfwertigem Antimon in der Toxizität und der Brechwirkung (Brunner).

Bemerkenswert ist, daß die trypanozide Wirkung im experimentellen Heilversuch nur den dreiwertigen, anorganischen Antimonverbindungen zukommt, dagegen den anorganischen Verbindungen des fünfwertigen Antimons ganz fehlt (Kolle, Bock), also ein sehr ausgeprägter Unterschied der beiden Oxydationsstufen.

Kommen wir zu den organischen Verbindungen des Antimons, so finden wir eine der des Arsenz nahe kommende Fülle von Variationsmöglichkeiten.

Eine Begrenzung ist dadurch gegeben, daß die chemische Haftfestigkeit des Antimons am Kohlenstoff vielfach nicht so groß ist wie diejenige des Arsenz, so daß manche an sich interessante Verbindung wie z. B. das Dioxydiamidostibobenzol, das Analogon des Salvarsan, nicht haltbar genug ist, als daß es für die therapeutische Anwendung in Frage käme.

Ferner unterscheiden sich die organischen Antimonverbindungen prinzipiell dadurch von den organischen Arsenverbindungen, daß der anorganische Teil des Moleküls in den auch beim Antimon für chemotherapeutische Effekte allein brauchbaren Monoarylantimonverbindungen, so z. B. in den aromatischen Stibinsäuren, der Rest $-SbO_3H_2$ den chemischen Charakter des Gesamt moleküls mit seinen kolloidchemischen Eigenschaften prädominierend bestimmt, während die organischen Arsenverbindungen mehr oder weniger rein organischen Verbindungen ähneln.

Gewisse Parallelen dazu lassen sich in dem biologischen Verhalten der aromatischen Antimonverbindungen erkennen.

Ähnlich wie bei den organischen Arsenverbindungen ist die Toxizität beeinflußbar. Z. B. können gewisse dreiwertige Kohlenstoff-Antimonverbindungen eine den Arsengaskampfstoffen nahe-kommende Reizwirkung entfalten, andererseits kann die Toxizität z. B. der Arylstibinsäuren mit fünfwertigem Antimon stark durch Benzolsubstituenten beeinflußt werden.

Die Wirksamkeit kann qualitativ und quantitativ in den organischen Antimonverbindungen modifiziert werden. (*Uhlenhuth, Kuhn und Schmidt.*)

Während jedoch für die chemotherapeutischen Unterschiede zwischen den einzelnen aromatischen Arsinsäuren lediglich die Benzolsubstituenten verantwortlich sind, der $-AsO_3H$ Rest gleich bleibt, kann bei den aromatischen Stibinsäuren bzw. ihren Salzen auch die Gestaltung des Stibinsäurerestes von Bedeutung sein.

Im p. aminophenylstibinsauren Diäthylamin (Neostibosan) ist die maximale Steigerung der auch im Brechweinstein vorhandenen Wirkung bei Kala-azar, das günstige Verhältnis von Wirksamkeit und Toxizität auf den p. Aminophenylrest, aber auch auf die kolloid-chemische Gestaltung des Antimonsäurerestes im Diäthylaminsalz zurückzuführen.

Es hat sich gezeigt, daß fünfwertige organische Antimon-Präparate wie Neostibosan und seine Vorläufer Stibenyl und Stibosan das dreiwertige Antimon, wie es im Brechweinstein vorliegt, bei anderen Krankheiten wie Bilharziosis nicht zu ersetzen vermögen.

Die Aufgabe, eine geeigneter Verabreichungsform für das Antimon für diese Indikationen zu schaffen, wurde infolgedessen auf anderem Wege als beim Kala-azar gelöst. Die Ursache der Unvollkommenheiten des Brechweinsteins in der Anwendung wurden als in der Unvollkommenheit der Komplexbindung liegend erkannt. Durch Verstärkung der Komplexbindung wurde das Antimosan und Fuadin (Neo-Antimosan) hergestellt. Bemerkenswert ist, daß durch die Verstärkung

der Komplexbindung¹⁾ eine erhebliche Entgiftung und somit Steigerung des chemotherapeutischen Index im Tierexperiment erreicht wurde, eine Beeinflussung des Index, wie sie beim Arsen nur in seinen Kohlenstoffverbindungen erreichbar ist. (*Uhlenhuth, Kuhn und Schmidt.*)

Nachdem sich aus diesen Betrachtungen ergeben hat, mit welchen Variationen der Wirkung in den Verbindungen der drei Elemente zu rechnen ist, können wir die chemotherapeutischen Wirkungen im Zusammenhang vergleichend betrachten. Bei der Fülle des teils klinischen, teils experimentellen Materials ist es nur möglich, einige für unsere Betrachtung wichtige Tatsachen hervorzuheben.

Protozoenerkrankungen: Bei Spirochäten kommt allen drei Elementen eine Wirkung zu.

Beim Arsen ist sie in den anorganischen Verbindungen nur angedeutet, im Salvarsan und seinen Abkömmlingen und Spirocid maximal gesteigert, beim Wismut wie oben ausgeführt, schon in einfachen Verbindungen, wenn sie resorbierbar sind, vorhanden.

Interessant ist, daß Antimon, im Mittelalter eines der Hauptmittel gegen Franzosenkrankheit, sich gegen die überragende Wirkung des Salvarsan und Wismuts in der neuen Entwicklung der Metalltherapie bei Spirochäten bisher nicht hat durchsetzen können.

Daß eine Wirkung, auch in den einfachen anorganischen Verbindungen vorhanden ist, ist verschiedentlich nachgewiesen, so bei Syphilis (*Salmon*) und Frambösie (*Dye*). Die Wirkung kann in einzelnen organischen Verbindungen gesteigert werden,

1) Vgl. Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene 1931, Beiheft 2.

Die Brenzkatechindisulfosäure, der im Fuadin verwendete Komplexbildner hat sich auch für die Herstellung neutrallöslicher Komplexsalze anderer Metalle bewährt.

Das kalziumbrenzkatechindisulfonsäure Kalzium-Natrium wurde kürzlich von *Weese* und *Seyderhelm* unter dem Namen Selvadin als reizloses injizierbares Kalziumsalz in die Therapie eingeführt.

z. B. im Stibosan: Hühnerspirillose, Kaninchensyphilis (*Uhlenhuth*¹), Recurrens und Sodoku (*Schochaerdt*).

Auch bei Trypanosen sind alle drei Elemente wirksam. Beim Wismut am wenigsten ausgeprägt. Über die trypanozide Wirkung neuer wasserlöslicher Wismutverbindungen hat *Schnitzer* berichtet. Beim Arsen ist die Wirkung in den anorganischen Verbindungen zwar vorhanden, aber schwach, spezifisch entwickelt in organischen Arsenverbindungen wie Atoxyl, Tryparsamid u. a. Beim Antimon haben bereits die dreiwertigen anorganischen bzw. Komplexverbindungen eine ausgesprochene Wirkung. In den fünfwertigen organischen Antimonverbindungen ist im Tierexperiment bei Nagana und Durine die Wirkung je nach den Benzolsubstituenten modifizierbar, z. T. gesteigert (Stibosan), z. T. fast auf 0 herabgesetzt (Neostibosan).

Das Bild ist bei den Trypanosen außerordentlich verwickelt durch die Verschiedenartigkeit, mit der die vielen Trypanosomenarten auf die Heilmittel reagieren, eine Verschiedenheit, die zudem noch mit dem Wirt wechselt, die vielfachen Divergenzen zwischen Tierexperiment und praktischer Erfahrung u. a. m.

Praktische Anwendung haben von den drei Elementen nur Arsen und Antimon gefunden. Bei menschlichen und tierischen Trypanosomen ist den Metallpräparaten ein starker Konkurrent in Bayer 205 erwachsen. Neben Bayer 205 werden bei der menschlichen Schlafkrankheit Atoxyl und Tryparsamid verwendet, Antimonpräparate nur untergeordnet.

Eine ausgesprochene spezifische Wirkung hat das dreiwertige Antimon (Brechweinstein, neuerdings Antimosan) bei

¹⁾ *Uhlenhuth* und *Seiffert* haben in *Klin. Wschr.* 1931, S. 1751 eine Zusammenstellung veröffentlicht, welche die Zuordnung der verschiedenen Antimonpräparate zu den Indikationen nach ihrer „Spitzenwirkung“ anschaulich zur Darstellung bringt. — Vgl. auch die Übersicht der Antimon- und Arsentherapie in *Klin. Wschr.* 1931, S. 1153.

der durch *Trypanosoma congoense* und *vivax* hervorgerufenen Tsetsekrankheit der Rinder in Südafrika (*Curson, Du Toit, Hornby, Parkin*) entsprechend der Wirkung bei der mit *Tryp. congoense* infizierten Maus (*Röhl*). Bei anderen tierischen Trypanosen wie der Nagana, Durine und Mal de Caderas der Pferde wird Antimosan vet. in Kombination mit Bayer 205 angewendet.

Bei Kala-azar (Leishmaniosis interna) entfaltet Antimon schon in einfachen anorganischen bzw. Komplexverbindungen eine spezifische Wirkung, während Arsenpräparate wirkungslos sind und Wismut nur geringe Wirkung hat.

Die Antimonwirkung ist in bestimmten aromatischen Stibinsäuren erhöht, maximal gesteigert im Neostibosan (*Napier, Röhl*), zugleich deutlich spezifiziert (unwirksam bei experimentellen Trypanosen und Spirochäten, ungenügend wirksam bei Bilharziosis).

Hautleishmaniosis: Auch bei dieser Krankheit, bei der die Leishmaniwirkung des Antimons 1913 von *Vianna*, angeregt durch volkstümliche Benutzung, zuerst festgestellt wurde, nimmt Antimon die erste Stelle unter den drei Elementen ein. Doch reagiert die Hautleishmaniosis, die besonders in ihrer asiatischen Form auch anderen medikamentösen Einflüssen zugänglich ist, nicht stets so streng spezifisch auf Antimon wie die interne Leishmaniosis. Eine Schwierigkeit der Beurteilung liegt ferner darin, daß besonders die asiatische Orientbeule mitunter gegen bestimmte Mittel refraktär ist, wobei möglicherweise Mischinfektionen eine Rolle spielen.

Einige Autoren schreiben Salvarsan-Präparaten Wirkung zu.

Bei der brasilianischen Espundia hat Antimon und zwar in der dreiwertigen Form (Fuadin) wohl unbestritten die Spitzewirkung. Auch bei der asiatischen Orientbeule wird dreiwertiges Antimon bevorzugt. Doch sind bei beiden Formen auch gute Ergebnisse mit fünfwertigen Antimonpräparaten erzielt worden.

Malaria: Von verschiedenen geprüften Arsenderivaten haben Salvarsan (Werner u. a.), Stovarsol (Spirocid) und Chininstovarsol (Valenti und Tomaselli, Marchoux und Fourneau) sich bei Malaria tertiana wirksam gezeigt.

Die Wirkung von Antimonpräparaten bei Malaria muß als ungeklärt gelten. Manchen positiven Ergebnissen, auch in chininresistenten Fällen stehen negative Befunde bei Nachprüfungen entgegen.

Bei Piroplasmosen werden Salvarsan-Präparate angewendet. Bei Theileriosis ist Antimosan wirksam befunden (Freund, Velu und Zottner). Bei Anaplasmosen ist eine kombinierte Behandlung mit Arsen- und Antimonpräparaten empfohlen worden (Färber).

Das Bild ist hier ähnlich wie bei den Trypanosen durch die Verschiedenartigkeit der Erreger und die verschiedene Reaktionsfähigkeit auf Heilmittel kompliziert.

Bei der durch Coccidien verursachten Rinderhämaturie ist Antimon wirksam (Schärrer).

Wurmerkrankungen: Bei Bilharziosis (Blasen-, Darm- und japanische Bilharziosis auch tierische Bilharziosen) haben dreiwertige Antimonpräparate (Fuadin) die Spitzenwirkung, während die Wirkung der fünfwertigen organischen Antimonpräparate geringer ist (Khalil u. a.).

Wismut und Arsenverbindungen haben, wenn überhaupt, nur eine geringe, nicht unbestrittene Wirkung.

Bei Opisthorchiasis der Katzen wurde eine spezifische Wirkung des Antimons (Fuadin, Brechweinstein) festgestellt. Fünfwertige Antimonpräparate (Neostibosan) sind ohne Wirkung. (Ehrhardt).

Eine gleiche Beschränkung der Wirksamkeit auf Antimon besteht für die Sklerostomiasis der Pferde (Richter).

Bei anderen Wurmerkrankungen wie Clonorchiasis, Paragonimiasis, den tierischen Leberegelseuchen, scheinen ähnliche Verhältnisse bez. einer Sonderstellung des Antimons

zu bestehen, doch ist volle Klarheit hier erst noch abzuwarten. Bei Trichinosis ist Brechweinstein und Fuadin wirksam (Grove, Beckmann).

Unter den verschiedenen Filarienerkrankungen dürfte dem Antimon eine sichere Wirkung bei Hundefilariasis zu kommen, eine schwächere vielleicht nicht spezifische bei menschlichen Filarienerkrankungen.

Bakterielle Erkrankungen: Hier sind sowohl vom Arsen wie vom Antimon Wirkungen bekannt, die in einigen Fällen als spezifische angesprochen werden können.

Das gilt besonders für den experimentellen Rotlauf der Maus, bei dem einige Salvarsan-Derivate eine ausgesprochene Wirkung haben, während Brechweinstein ohne Wirkung ist. (Kolle und Schloßberger.)

Colebrook hat gewisse Wirkungen der Arsenobenzole gegen Streptokokken im Experiment untersucht.

Hingewiesen sei auch auf die Anwendung des Salvarsan bei Milzbrand und einigen septischen Tierkrankheiten.

Für Antimon allein besteht eine spezifische Wirkung bei venerischem Granulom und bei Rhinosklerom, die durch die Natur ihres Erregers (*Kapselbazillus*¹) eine gewisse Verwandtschaft haben. Bei beiden Erkrankungen kommt die Wirkung bereits den dreiwertigen anorganischen bzw. Komplexverbindungen zu, doch wird Neostibosan in beiden Fällen bevorzugt.

Über die Wirkung der drei Elemente bei Maltafieber kann noch nichts Abschließendes berichtet werden.

Die Anwendung des Antimons als Adjuvans anderer Mittel bei Lepra beruht vielleicht nicht auf spezifischer Wirkung.

Vielleicht gilt das auch für die Beobachtungen über Heilwirkungen des Antimons bei Tuberkulose (Moxey, Josa, Wichmann). Auch mit Wismutpräparaten sind Wirkungen

¹) Vergl. hierzu die Ausführungen v. Martin Mayer, Med. Klin. 1922 Nr. 17 u. 18.

gesehen worden. Bei *Pemphigus tropicus contagiosus* fand *Leber Stibenyl* wirksam.

Infektionskrankheiten durch ultravISIBLES Virus: Eine spezifische Wirkung ist dem *Salvarsan* bei der Brustseuche der Pferde zuzusprechen.

Den Antimonpräparaten, ohne daß die Wirkung bisher auf ein bestimmtes Präparat konzentriert wäre, kommt eine beim Arsen und Wismut nicht bekannte Wirkung bei klimatischem *Bubo* (*Lymphogranulomatosis inguinalis subacuta*) zu. Bei experimenteller *Poliomyelitis* des Affen haben von den drei Elementen allein Antimonpräparate Wirkung gezeigt (*Jungeblut*).

Mykosen: Antimonpräparate (Brechweinstein, *Antimosan vet.*) haben eine zuverlässige spezifische Wirkung bei dem in Indien verbreiteten Nasengranulom der Rinder (*Rai Sahib* und *G. N. Roy Chauduri*). Die Krankheit wird ähnlich der Aktinomykose durch einen Strahlenpilz verursacht¹⁾. Bei *Rhinosporidiosis* fand *Wright* Brechweinstein wirksam. *Salvarsanpräparate* finden als spezifisch wirkende Mittel Anwendung bei *Lymphangitis epizootica*; auch *Antimon* ist wirksam (*Alessandrini*).

Bartonellenanämie: Bei dieser experimentellen Infektion der Ratten sind in den letzten Jahren interessante Ergebnisse mit den drei Elementen gefunden worden. Wirksam sind nach *Mayer*, *Borchardt* und *Kikuth* Arsenverbindungen, am meisten gesteigert in organischen Arsenverbindungen, *Salvarsan* u. a., die nach *Kikuth* auch bei *Bartonella canis* wirksam sind. Unwirksam sind Wismut und anorganische Antimonverbindungen.

Manche organische Antimonverbindungen haben eine Wirkung (*Stibenyl*, *Stibosan*), die jedoch derjenigen des *Salvarsan* weit nachsteht, *Neostibosan* ist unwirksam (*Yoshiwhara*).

¹⁾ In einer soeben erschienenen Publikation von *Datta* wird diese bisherige Annahme bestritten und unterschieden zwischen einem durch Schistosomen verursachten Nasengranulom und einer klinisch ähnlichen *Rhinosporidiosis* des Rindes. Die spezifische Wirkung des Antimons richte sich vornehmlich gegen die erstere Erkrankung.

Einige salvarsan-ähnliche Arsen-Antimonverbindungen haben nach *Uhlenhuth* und *Seiffert* l.c. eine über die Salvarsan-Präparate hinaus gesteigerte Wirkung. Die gleichen Verbindungen hatten bei Recurrens eine geringe Steigerung, waren aber bei Spirochäten und bei Trypanosen von ungenügender Wirkung.

Zusammenfassend ist die Häufung von chemotherapeutischen Fähigkeiten in den drei Elementen der Gruppe Vb hervorzuheben. Diese Fähigkeiten sind beim Arsen und Antimon vielseitiger als beim Wismut, am vielseitigsten beim Antimon. Neben scharfen qualitativen Unterschieden finden sich gemeinsame Indikationen (Spirochäten und Trypanosen) und Übergänge. Die Wirkung konnte bisher in einem vom Wismut über Antimon zum Arsen ansteigenden Grade in den Verbindungen der drei Elemente qualitativ und quantitativ modifiziert werden. Es lassen sich Beziehungen zu den chemischen Variationen erkennen.

Neuerungen auf dem Gebiet der histologischen Technik

PROF. DR. G. DOMAGK

Aus dem Institut für Experimentelle Pathologie der I. G. Farbenindustrie A.G., Werk Elberfeld

Während man in früherer Zeit darauf angewiesen war, im ungefärbten Zupfpräparat oder im Rasiermesserschnitt nach den struktur-gebundenen physiologischen Funktionen und den Veränderungen am Gewebe unter dem Mikroskop zu suchen, ist es dem Forscher unserer Zeit mit Hilfe wesentlich verbesserter Methoden sehr viel einfacher gemacht. Wir haben heute wesentlich bessere optische Einrichtungen, wir besitzen heute ausgezeichnete Mikrotome, um wenige γ -dicke Schnitte aus frischem oder fixiertem Gewebe herzustellen. Eine große Anzahl von Härtungs- und Fixierungsmethoden sind erfunden worden, um die zu untersuchenden Gewebe vor Autolyse und Fäulnis zu schützen und um eine optimale Schneidefähigkeit zu erreichen. Wir kennen Methoden, um empfindliche, brüchige Gewebe in Gelatine, Paraffin und Celloidin einzubetten. Dadurch erreichen wir, daß selbst z. B. nekrotische Gewebspartien, die beim Schneiden in uneingebettetem Material herausfallen würden, gut im Zusammenhang mit den angrenzenden Geweben zur Darstellung gebracht werden können. Viele Färbungen sind erfunden, die uns gestatten, Einzelheiten und Feinheiten in den Zellen besser als früher zu erkennen. Trotzdem wollen wir nicht vergessen, wieviel wertvolle, ins einzelne gehende Befunde von den älteren Forschern mit den einfachsten Methoden schon festgestellt werden konnten. In vielen Fällen werden wir auch heute noch nicht auf die Betrachtung des unfixierten, ungefärbten Frischschnittes verzichten. Andererseits wird heute kein Forscher mehr ohne die bewährten Färbungsmethoden in der Histologie arbeiten, die ihm gestatten, beispielsweise feinste Kernveränderungen an der Zelle zu erkennen, die wir am

Frischschnitt nicht feststellen können, oder Einschlüsse wie Fett, Glykogen, Kalk, Eisen usw. in den Zellen elektiv darzustellen.

Doch ist es unumgänglich notwendig, daß bei den Färbungsmethoden an fixierten Zellen gewisse Voraussetzungen erfüllt sind. Die Fixierung der Zellen soll sofort nach der Entnahme so frisch als möglich erfolgen, um störende autolytische Einflüsse möglichst zu vermeiden; außerdem dürfen die Organstückchen nicht zu groß sein, damit sie überall von der Fixierungsflüssigkeit umspült werden und die Fixierungsflüssigkeit in sie eindringen kann. Große Objekte müssen durch Einschnitte der Fixierungsflüssigkeit zugänglich gemacht werden; ganze Organe, z. B. Lungen, Gehirn injiziert man zweckmäßig zuerst mit der Fixierungsflüssigkeit von den Gefäßen aus und legt sie dann in die Fixierungsflüssigkeit ein. Als gebräuchlichstes Fixierungsmittel dient heute fraglos das Formol. In den meisten Fällen genügt für die üblichen Untersuchungen die Fixation in 4—10 %igem Formol. Doch besitzt auch das Formol, dieses im allgemeinen ideale Fixierungsmittel, noch Fehler, die sich namentlich bei Beurteilung feinster Zellstrukturen bemerkbar machen. Man will ja durch die Fixierung ein möglichst auch der lebenden Zelle angenähertes Zustandsbild der Zelle erhalten, und deshalb darf keine zu starke Schwellung oder Schrumpfung der fixierten Zelle eintreten. Aus diesem Grunde sind die in letzter Zeit unternommenen Bestrebungen zur Verbesserung der vorhandenen Fixierungsmethoden erklärlich. Man möchte die unerwünschten Schrumpfungen und Quellungen infolge eintretender Säuerung der Fixierungsflüssigkeit, wenn sich Gewebe darin befinden, vermeiden; man möchte einen stets gleichbleibenden pH der Lösung, der der des Blutes angenähert ist, ferner eine Isotonie der Lösung erzielen. Die Fixierungsflüssigkeit, die diese Forderungen bisher weitestgehend erfüllt, ist kürzlich von *W. Groß und Lohaus* angegeben worden (Z. f. w. Mikr. Bd. 49, 1932).

Unnötige Einbettungsverfahren wird man so weit als möglich vermeiden. Mit einem guten Gefriermikrotom kann man an den meisten Geweben bei einiger Übung gute Resultate erzielen. Man vermeidet dann weitere Schrumpfungen im Paraffin usw., doch sind die Einbettungsmethoden nicht in allen Fällen zu umgehen, z. B. für die histologische Untersuchung des Gehirns, der Knochen, der Augen usw. lässt sich die Celloidineinbettung nicht vermeiden. Eine Verbesserung dieser Methode glauben wir durch die Einführung des „Cedukol“ erzielt zu haben, einem in bequem zu handhabenden Aluminiumschraubdosen verpackten Zellstoffpräparat, das ohne vorherige Trocknung, — wie sie bei Celloidin allgemein üblich ist, — sofort in Äther-Alkohol aufgelöst werden kann.

Die dünne Lösung I wird hergestellt, indem man 10 g Cedukol in einer Mischung von 50 ccm Äther und 50 ccm absolutem Äthylalkohol löst, die dicke Lösung II, indem man 15 g Cedukol in einer Mischung von je 50 ccm Äther und absolutem Äthylalkohol löst. Gehirnstückchen für die *Nissl*-färbung betten wir beispielsweise folgendermaßen ein: Fixation in 96 %igem Äthylalkohol, Entwässerung in mehrmals gewechseltem Alkohol abs. Nach 24ständigem Aufenthalt in Äther-Alkohol kommen die Stückchen für etwa 8 Tage in Lösung I, danach für etwa 8—14 Tage in Lösung II und werden dann aufgeblöckt auf Holz oder Stabilit. Um eine zu rasche Trocknung zu vermeiden, lässt man das Festwerden bis zur gewünschten Konsistenz unter einer Glasglocke geschehen, unter der sich ein kleines Schälchen mit Chloroform befindet. Die fertigen Blöckchen werden in 70 %igem Äther-Alkohol aufbewahrt.

Um einwandfreie, gute Färberesultate am histologischen Schnitt zu erreichen, müssen schon bei der Fixierung und Einbettung gewisse Voraussetzungen unbedingt eingehalten werden, daneben sind selbstverständlich die genauen Vorschriften der Färbungsmethoden streng zu befolgen. Nur so erhält man in jedem Fall gut miteinander vergleichbare Bilder oder — wie *Nissl* dies bezeichnend ausgedrückt hat —: stets dasselbe Äquivalentbild der lebenden Zelle. Die wichtigste Voraussetzung zur Erreichung eines zuverlässigen Färbeergebnisses ist jedoch die Verwendung der gleichen Materialien bei Vornahme der Färbung. Bisher ist dem Forscher diese Forderung

leider unerfüllt geblieben. Fast alle in der chemischen Industrie hergestellten Farbstoffe haben den Zweck der Textilfärbung oder andere technische Verwendung zu erfüllen, aber nicht den Ansprüchen der wissenschaftlichen Forschung zu genügen. Die Zusammensetzung des Farbstoffes entspricht fast stets den Wünschen und Forderungen der Technik, für deren Bedarf die oft ungleich ausfallenden Fabrikationspartien durch die verschiedenartigsten Zusätze auf die gewünschte Farbstärke, Farbnuance usw. eingestellt werden. Außerdem sind die Farben der Mode unterworfen und werden im Laufe der Zeit durch andere ersetzt, wobei auch noch die Gesichtspunkte verbesserter Echtheit, besserer Egalisierung usw. maßgebend sind. Diese Dinge kennt nur der Textilfachmann, der Mediziner und Biologe erfährt praktisch davon nichts.

Unter den bestehenden Bedingungen müßte man oft ernsthaft die Zuverlässigkeit und die Vergleichsmöglichkeiten der mit den üblichen histologischen Methoden gewonnenen Ergebnisse in Zweifel ziehen. Wie viele wissenschaftliche Irrtümer und wie viele Diskussionen durch diesen Mangel der bisherigen Methodik bedingt sein mögen, sei dahingestellt.

Zur Vereinheitlichung und Standardisierung der für die wissenschaftlichen Methoden verwendeten Farbstoffe haben wir daher ein Sortiment von Farbstoffen ausgewählt¹⁾ und standardisiert, deren besondere Eignung und Brauchbarkeit für die mikroskopischen Zwecke in unseren Laboratorien festgestellt wurde.

Die Zahl der für histologische Zwecke angegebenen Färbungsmethoden ist allmählich ins Ungemessene gestiegen. Für die wichtigsten der bewährten Färbungen wurden die geeigneten Farbstoffe ausgesucht. Außerdem arbeiteten wir in unseren Laboratorien eine Reihe von verbesserten Färbungsmethoden aus. Die wichtigsten täglich in der histologischen

¹⁾ Die Farbstoffe werden von der Firma Dr. Karl Hollborn & Söhne, Leipzig, Hardenbergstr. 3, als standardisierte Farbstoffe „Bayer-Meister Lucitus“ vertrieben.

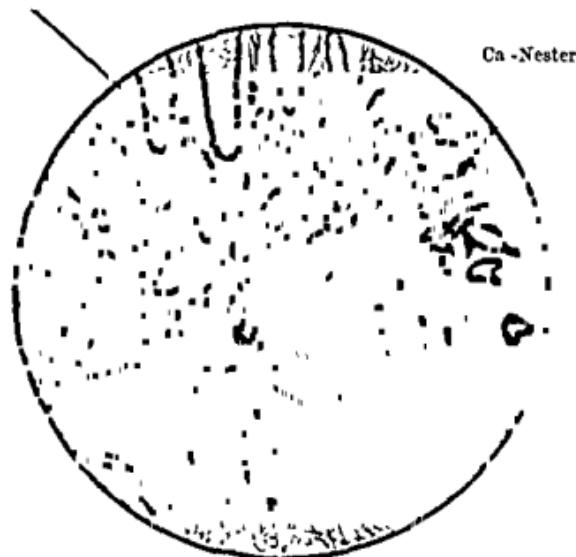
Technik benutzten Methoden sind die Kernfärbungen meist in Kombination mit einer Gegenfärbung des Protoplasmas sowie des Blutes, ferner die Methoden zur Darstellung des Bindegewebes und des Fettes. In der Praxis genügt im allgemeinen eine geringe Anzahl guter Färbungen, aber diese müssen dann wenigstens absolut zuverlässig sein.

Eines der wichtigsten Ziele der histologischen Technik ist die Erzielung prägnanter, licht- und reduktionsechter Kernfärbungen. Die größten Verdienste auf diesem Gebiete gehören *Becher*, der eine große Reihe von Farbstoffen auf diese erwünschten Eigenschaften hin untersuchte. Doch haben sich auf dem Gebiete der praktischen Histologie die neuen von *Becher* angegebenen Färbungen noch nicht recht einbürgern können, vor allem wohl deswegen, weil sie nicht so rasch wie die Färbungen mit Hämatoxylin und Carmin ausgeführt werden können. Diese beiden Naturfarbstoffe waren bisher in der histologischen Technik durch bessere synthetische Farbstoffe nicht zu ersetzen.

Im Verfolg der Arbeiten gelang es uns, in der Anthrachinonreihe einen vollkommen lichtechten, roten Farbstoff zu finden, der an Färbe- und Leuchtkraft das Carmin bei weitem übertrifft und in kürzester Zeit einwandfreie Kernfärbung gibt. Ausgezeichnete Färberesultate mit diesem neuen roten Kernfarbstoff, Kernechtrot, erzielt man auch bei der Eisenfärbung, der Gramfärbung, der *Malloryschen* Bindegewebsfärbung, der Färbung der elastischen Fasern usw.

Da die Kerne junger Zellen und die Mitosen sich durch eine besonders leuchtende Rotfärbung mit Kernechtrot auszeichnen, hat sich der Farbstoff besonders für die Geschwulstdiagnostik bewährt. Die Relation zwischen Kern und Protoplasma tritt ganz besonders deutlich in Erscheinung. Kombiniert man die Kernfärbung noch mit einer blauen Plasmafärbung, so sieht man z. B. an einem Dickdarmkarzinom (Abb. 1) die normalen Epithelien der Schleimhaut blau mit kleinen roten

Normale
Darmschleimhaut



Ca -Nester

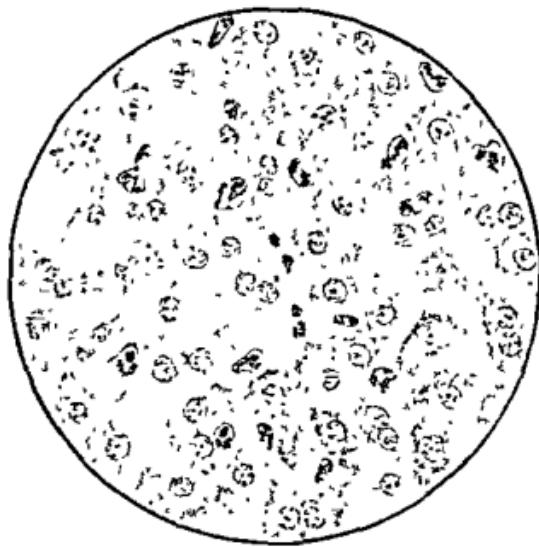
1 Adeno-Carcinom des Rectums

*Färbung der Kerne mit Kernechtrrot
Gegenfärbung mit Anilinblau-Orange*



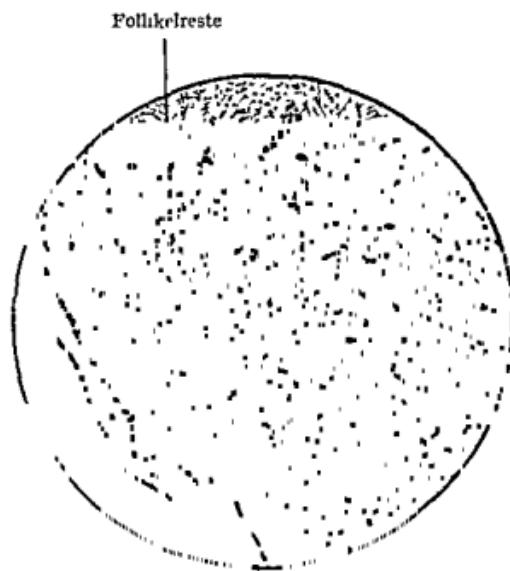
2 Haemosiderin in der Rattenmilz

*Kernfärbung mit Kernechtrrot und
Berlinerblau - Reaktion*



3 Phagocytose von Staphylokokken in den
Kupfferschen Sternzellen der Leber
(Infizierte Maus)

Gramfärbung - Kernechtrot



4 Tuberkulöse Lymphdrüse vom Meerschweinchen

Malloryfärbung, Kernfärbung mit Kernechtrot.
Die noch erhaltenen Follikel zeigen intensiv rote
Kerne, der Tie-Herd in der Mitte nekrotisch, im
Übrigen von blau gefärbtem Bindegewebe durchsetzt

Kernen; im Gesamteindruck der normalen Schleimhaut überwiegt das Blau. Im Gebiet des wuchernden Karzinoms hingegen erscheinen die Epithelien infolge des stärkeren Hervortretens der großen Kerne im ganzen rot, der schmale blaue Protoplasmasaum tritt ganz zurück. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen daher im Gegensatz zur normalen, blau erscheinenden Schleimhaut die Ca-Nester intensiv rot.

Die Vorschriften für die wichtigsten Kombinationsfärbungen mit Kernechtrot sind folgende:

1. Kernfärbung: Fixierung in Formol und anderen Fixierungsflüssigkeiten, am besten in alkoholischer Sublimatlösung.

Herstellung der Farblösung: 0,1 g Kernechtrot werden in 100 ccm 5%iger wässriger Aluminiumsulfatlösung heiß gelöst. Nach dem Erkalten wird die Lösung filtriert.

Die Schnitte werden 1—5 Minuten in dieser Farblösung gefärbt und danach in Aqua dest. abgespült. Entwässerung in Alkohol, Xylol, Balsam. Nach der Kernfärbung eventuell Gegenfärbung mit Anilinblau, Anilinblau-Orange usw.

2. Kernfärbung in Kombination mit der Eisenfärbung: Die Schnitte kommen, nachdem sie 12 Stunden in frischem Schwefelammonium gelegen haben und gut ausgewaschen sind, 30 Minuten in eine Lösung von 20%igem Ferrizyankalium und 1%iger Salzsäure zu gleichen Teilen. Nach nochmaligem grundlichem Auswaschen Nachfärbung der Kerne in der 0,1%igen Lösung von Kernechtrot. Färbedauer etwa 1—5 Minuten. Danach abspülen in Aqua dest., entwässern der Schnitte in Alkohol, Xylol, Balsam (siehe Abb. 2).

3. Kombination der Kernfärbung mit Kernechtrot und Gramfärbung: Vorfärbung der Schnitte in der 0,1%igen Kernechtrot-Aluminiumsulfatlösung 5—10 Minuten. Abspülen der Schnitte in Aqua dest., 5 Minuten Färbung in Anilinwasser-Methylviolett oder Karbolwasser-Methylviolett, Abspulen der Schnitte in Aqua dest. Nach Abtrocknen der Schnitte für 3 Minuten Lugolsche Lösung, wiederum Abtrocknen mit Fließpapier. Differenzieren in Anilin. In den richtig differenzierten Schnitten sind die Gram + Bakterien intensiv blau-schwarz gefärbt, die Kerne rot (siehe Abb. 3). Die differenzierten Schnitte kommen in mehrmals zu wechselndes frisches Xylol und werden in Balsam oder Caedax eingeschlossen.

4. Kernechtrotfärbung der Zellkerne in Kombination mit der Malloryfärbung (siehe Abb. 4 und 5): Kernfärbung in Kernechtrot-Lösung etwa 5 Minuten, kurz Auswaschen in Aqua dest. und Fixierung der Färbung in 1%iger wässriger Phosphormolybdänsäure 5 Minuten, Auswaschen in Aqua dest. und 2 Minuten Färben in:

Anilinblau 0,5 g.
Orange G 2,0 g.
Oxalsäure 2,0 g.

Aqua dest. 100 ccm, gekocht, abgekühlt, filtriert.

Auswaschen in Aqua dest., Differenzierung in 96%igem Alkohol, abs. Alkohol, Xylol, Balsam.

Für die Bindegewebsfärbung nach *Mallory* mit Kernechtrot als Kernfarbstoff bringt die *Firma Hollborn & Söhne* eine sehr einfach zu handhabende Farbstoffmischung Kernechtrot-Kombination „H“ heraus, mit der es außerordentlich einfach und schnell gelingt, eine schöne Bindegewebsfärbung mit guter Kernfärbung zu erzielen. Die Schnitte — Gefrier- und Paraffinschnitte — werden 20—30 Minuten in folgender Farblösung gefärbt: 2 g Kernechtrot-Kombination „H“ gelöst in 100 ccm heißem Aqua dest. (Lösung nach dem Erkalten filtriert).

5. Kernechtrotfärbung der Zellkerne in Kombination mit der Elasticafärbung:

Gefrierschnitte werden 5 Minuten, Paraffinschnitte 10—15 Minuten in Resorzinfuchsin nach *Weigert* gefärbt.

Differenzierung in 96%igem Alkohol und Abspülen in Aqua dest.

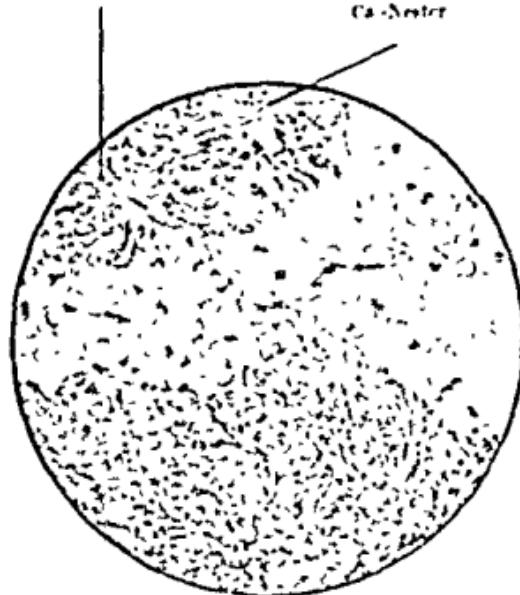
Kernfärbung in der obigen Kernechtrotlösung 5 bzw. 10—15 Minuten Aqua, Alkoholreihe, Xylol, Balsam.

Als blauen Kernfarbstoff hat bereits *Becher* das Naphtazarin empfohlen. Wir fanden eine besonders farbkräftige, für die histologische Technik sehr gut geeignete Variante, mit der es schon in relativ kurzer Zeit gelingt, gute blaue Kernfärbungen zu erzielen, wenn auch nicht in so kurzer Zeit wie mit dem beschriebenen Kernechtrot.

Vorschrift für die Naphtazarinfärbung (siehe Abb. 6): Lösungsvorschrift für Naphtazarin: 0,1 g Naphtazarin und 5 g reines Aluminiumchlorid werden in 100 ccm Aqua dest. 5—10 Minuten lang gekocht. Nach Erkalten wird die Lösung filtriert, nach 8 Tagen nochmals. Zusatz von etwas Thymol.

Vorschrift für die Naphtazarin-Eosin-Färbung: Fixierung in Sublimatalkohol oder Formol. Gefrierschnitte 10—15 Minuten färben. Paraffinschnitte 1—24 Stunden (Überfärbung tritt nicht leicht ein), dann Abspülen in Aqua dest. Nachfärbung mit Eosin.

Alle blauen Kernfärbungen — sei es nun eine Naphtazarin oder Hämatoxylinfärbung — werden gern mit einem das Protoplasma sowie das Blut intensiv rot färbenden Farbstoff nachgefärbt. Die meisten Eosinmarken sind jedoch recht lichtempfindlich. Diese Eigenschaft macht sich sehr nachteilig bemerkbar bei Präparaten, die für Demonstrationszwecke benutzt und längere Zeit aufbewahrt werden sollen. Wenn die mit Eosin



5

Mamma Carcinom

Endozytosefiltrat nach Mallory
mit Kerneffekt als Kernfettstoff



6

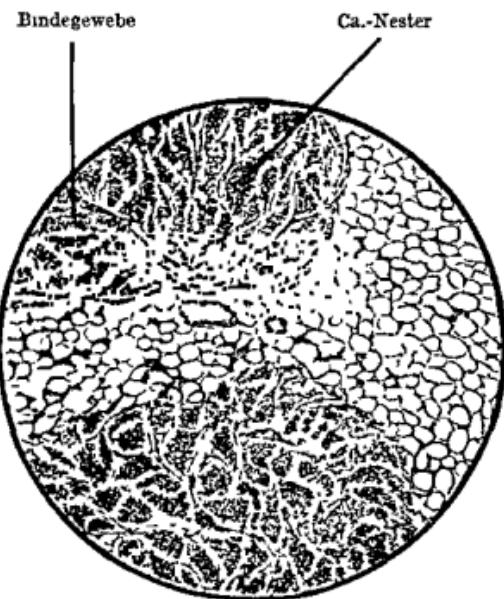
Melanom

Endozytosefiltrat nach Mallory



7 Fibroadenom der Brustdrüse (*Formolfixation*)

Eisenhämatoxylin - Kernechtrot



8 Mamma-Carcinom

*Bindegewebebefärbung Eisenhämatoxylin-
vorfärbung, Thiazinrotnachfärbung*

gegengefärbten Schnitte projiziert werden müssen, verlieren sie besonders rasch die Farbe. Es lag deshalb das Bedürfnis vor, lichtechtere intensive rote Farbstoffe für die Plasma-gegenfärbung herauszufinden. Wir prüften zunächst alle vorhandenen Eosinmarken und stellten fest, daß das spritlösliche Eosin (*stand. „Bayer-Meister Lucius“*) das weitaus lichtbeständigste ist. Für eine lichtechte Rotfärbung läßt sich jedoch auch das oben erwähnte Kernechtrot in 0,1 %iger wässriger Lösung verwenden, die man mit 1 Tropfen Eisessig ansäuert. Ferner eignet sich auch Azophloxin als lichtechter, das Blut intensiv rotfärbender Farbstoff, worauf *Anders* hingewiesen hat. Wir verwenden das Azophloxin in 0,05 %iger wässriger Lösung, die vor Gebrauch mit Essigsäure schwach angesäuert ist, als Nachfärbung für Naphtazarin, Hämatoxylin und Eisenhämatoxylin.

Ganz besonders möchten wir noch auf eine sehr einfache, von uns in letzter Zeit ausprobierte Kombinationsfärbung für den täglichen Gebrauch hinweisen, die bessere Resultate ergibt als die Hämatoxylin-Eosinfärbung — nicht nur was Lichtechtheit, sondern auch die Farbschönheit anbetrifft. Außerdem besitzt die Kombinationsfärbung den großen Vorteil, daß die blaue Kernfärbung gleichzeitig mit der roten Gegenfärbung des Protoplasmas, des Blutes usw. erfolgt. Man erhält also im Verhältnis zur Stärke der Kernfärbung stets die gleich starke rote Gegenfärbung und schaltet damit jeden Fehler ungleich starker Differenzierungen aus. Bei unserer neuen Kombinationsfärbung mit Naphtazarin-Azophloxin ist überhaupt keine Differenzierung notwendig. Bei gleich langer Färbedauer, die man je nach Wunsch und Geschmack festsetzen kann, erhält man stets dieselben Resultate.

Man hält sich 2 Lösungen vorrätig:

I. Naphtazarinlösung

0,25 g Naphtazarin

5,0 g chemisch reines Aluminiumchlorid

gelöst in 100 ccm Aqua dest., 5—10 Minuten gekocht, nach Erkalten filtriert;

II. 0,1 %ige wässrige Azophloxinlösung.

Vor Gebrauch wird zu 3 Teilen der Lösung 1

1 Teil der Lösung 2

zugegeben und filtriert. Am besten setzt man die Mischung immer frisch an, man kann sie aber auch mehrfach benutzen.

Gefrierschnitte werden in der Mischung der Farbstoffe I und II 10—15 Minuten gefärbt, Paraffinschnitte etwa 20 bis 30 Minuten. Nach der Färbung Abspülen in Aq. dest., Entwässern in Alkohol, Einschließen in Caedax.

Mit dieser einfachen Färbung dürfte man in den meisten Fällen für die täglichen Diagnosen auskommen. Die Kernfärbung sowie die Protoplasmagegenfärbung sind außerordentlich distinkt, das Blut erscheint in tief leuchtendem Rot.

Die Prüfung auf die Lichtheit der verwendeten Farbstoffe erfolgte für unsere Zwecke in der Weise, daß die fertig gefärbten histologischen Präparate 8 Tage lang einer intensiven Bestrahlung mit der Vitalux-Lampe ausgesetzt wurden.

Von den Bindegewebefärbungen ist die bekannteste Methode die nach *van Gieson*. Nach einer Kernvorfärbung mit Hämatoxylin resp. Eisenhämatoxylin wird mit einer Pikrinsäure-Säurefuchsinlösung nachgefärbt. In den so gefärbten Schnitten ist das Bindegewebe zunächst intensiv rot gefärbt, jedoch ist das Präparat bei Bestrahlung nur wenig beständig. Statt des Pikrofuchsin verwendet man deshalb mit Vorteil eine Nachfärbung mit dem lichtechten Kernechtrot (siehe Abb. 7).

Färbungsvorschrift: Kernfärbung mit Eisenhämatoxylin 2—10 Minuten, gründliches Wässern mit Leitungswasser. Nachfärbung 5—10 Minuten in folgender Lösung:

gesättigte wässrige Pikrinsäure 10 ccm,

heiß gesättigte wässrige Kernechtrotlösung 0,75 ccm.

Abspülen in Aqua dest., 2 mal 96 %iger Alkohol, abs. Alkohol, Xylol, Balsam.

Noch schönere, ebenfalls lichtbeständige Färbungen erhält man bei Verwendung des Thiazinrot (*stand. „Bayer-Meister Lucius“*) (siehe Abb. 8).

Färbungsvorschrift: Kernfärbung mit Eisenhämatoxylin 2—10 Minuten, gründliches Wässern in Leitungswasser, Nachfärbung 3—5 Minuten in folgender Lösung:

gesättigte wässrige Pikrinsäure 10 ccm.

1% wässrige Thiazinrotlösung 0,75 ccm.

Abspülen in Aqua dest., 2mal 96%iger Alkohol, abs. Alkohol, Xylol, Balsam.

Zum Eindecken aller unserer gefärbten histologischen Präparate benutzen wir seit langem nicht mehr den Natur-Kanadabalsam, der stets Säure enthält und auch noch nachsäuer, sondern ein als „Caedax“ bezeichnetes, synthetisch hergestelltes, vollkommen neutrales, klar durchsichtiges Produkt von dem Brechungsindex 1,55. Die Verwendung von Caedax empfiehlt sich unbedingt für alle empfindlichen Farbstoffe, z. B. für die Differenzierung der Blutzellen mit der *May-Grünwald-* oder *Giemsa*-färbung, bei Verwendung des Thionins oder Cresylviolellts zur Darstellung der Nervenzellen nach *Nissl* usw. Caedax erhärtet bei Luftzutritt wie Kanadabalsam, er lässt sich mit Xylol oder Toluol verdünnen, wenn er bei kühlerer Temperatur zu zähflüssig wird.

Wie wichtig die Verwendung guter, stets gleichbleibender Materialien und eine gute Methodik der Färbung für die Beurteilung pathologischer Prozesse im histologischen Präparat sind, haben wir besonders bei Durchprüfung aller im Handel befindlichen Fettfarbstoffe festgestellt. Zur Darstellung des Fettes in Zellen und Geweben benutzt man üblich eine Lösung von Sudan oder Scharlach. Diese Farbstoffe aber werden nach den Bedürfnissen der Technik dargestellt ohne Rücksicht auf die Verwendbarkeit in der Histologie. Unter den vorhandenen Farbmustern fanden wir zahlreiche für unsere Zwecke völlig ungeeignete, mit denen es auf keine Weise gelang, das Fett, namentlich in kleinen Herden, wie wir sie z. B. bei der beginnenden Arteriosklerose finden, darzustellen. Wichtige pathologische Veränderungen können also vollkommen verborgen bleiben, wenn nicht die geeigneten Materialien zur Verfügung stehen. Als einen Farbstoff, der das Fett in den Geweben optimal färbt, fanden wir das Sudanrot (*stand. „Bayer-Meister Lucius“*). Damit gelingt

es, selbst die allerkleinsten Verfettungsherde in einem leuchtenden Rotgelb darzustellen, besonders wenn man die von W. Groß angegebene Vorschrift zur Fettfärbung verwendet. Diese Methode hat den großen Vorteil, daß der Fettfarbstoff nicht in einem gleichzeitig fettauflösenden Mittel wie Alkohol oder Aceton gelöst wird, sondern in Diazetin, welches zwar den Farbstoff sehr gut, aber Fett nicht löst. Damit schwindet die Gefahr, daß man wie bisher bei Verwendung alkoholischer Sudanlösung Fett aus dem Schnitt herauslöst.

Vorschrift: Die Schnitte werden 20 Minuten bei 60° gefärbt in folgender Lösung: 0,6 g Sudanrot in 100 ccm Diazetin und Aqua dest. zu gleichen Teilen bei 60° gelöst. Vor Gebrauch wird die Lösung filtriert. Nach dem Färben werden die Schnitte in Aqua dest. abgespült. Kernfärbung mit Naphtazarin oder Hämatoxylin. Wässern in Leitungswasser, Einschließen in Glyzeringelatine.

Bei Beachtung dieser Färbungsvorschriften wird man bei Verwendung derselben Materialien stets dieselben gleich guten und stets untereinander vergleichbaren Resultate erhalten. Für die tägliche histologische Praxis dürften die angeführten Färbungen die am häufigsten angewendeten und wichtigsten sein. Für alle anderen wichtigen erprobten Methoden werden die Vorschriften für die *standardisierten Farbstoffe „Bayer-Meister Lucius“* den Handelspackungen beigegeben oder auf Wunsch von der Firma Dr. K. Hollborn & Söhne in Leipzig zur Verfügung gestellt.

M. E. wird die Einführung der neuen standardisierten Farbstoffe fraglos zur Erleichterung des histologischen Arbeitens beitragen. Die Beurteilung der Färbungsresultate wird vereinfacht und eine Möglichkeit zum genauen Vergleich der zu verschiedenen Zeiten und an verschiedenen Orten erhaltenen Färbungsresultate geschaffen werden. Außerdem wird man auch in der Histologie sicherlich immer mehr Gewicht auf die Verwendung guter, licht- und reduktionsechter Farbstoffe legen und sich die neuen verbesserten Farbstoffe, die die Technik verwendet, auch für die Forschung nutzbar zu machen suchen.

Die heutigen Methoden der Diphtheriebekämpfung

PROF. DR. H. SCHMIDT

Aus der Sero-bakteriologischen Abtlg. „Bayer-Meister Lucius-Behringwerke“
und dem Institut für Experimentelle Therapie „Emil v. Behring“, Marburg

Die therapeutische und prophylaktische Bekämpfung der Diphtherie ist immer noch ein Problem. Zwar haben wir heute, wie wir im weiteren zeigen werden, besseres und höherwertiges Serum als früher und wir verfügen über eine Reihe von Präparaten zur Schutzimpfung gegen Diphtherie, deren Wirksamkeit bislang sichergestellt zu sein scheint, aber die wissenschaftlichen Grundlagen der Immunität bei Diphtherie sind heute für die Forschung nach einer Zeit scheinbarer Klärung wieder unsicherer geworden, nachdem man gelernt hat, daß auf allen Teilgebieten die Verhältnisse viel verwickelter sind, als man bisher angenommen hatte.

Ganz abgesehen davon, daß wir immer noch nicht wissen, was Toxin und Antitoxin ihrer eigentlichen Natur nach für Stoffe sind, wissen wir auch noch nicht mit genügender Sicherheit die Fragen zu beantworten, wie wirkt das Toxin, wo greift es im Organismus an, wieviel Toxin und wie schnell wird es bei einer Diphtherieerkrankung gebildet, worin besteht die entgiftende Wirkung des Antitoxins, worauf beruht die Immunität gegen Diphtherie und wie kann man sie messen usw.

So zwingt uns die Erkenntnis, daß wir nicht einmal die grundlegenden Fragen genau beantworten können, bescheiden zu sein und dankbar die Fortschritte in der Bekämpfung der Diphtherie anzuerkennen, die trotz dieser Unkenntnisse gemacht werden konnten.

Versuchen wir uns in Kürze Rechenschaft über diese Fortschritte zu geben, so steht zunächst die Serum-Therapie und -Prophylaxe immer noch an erster Stelle in der Diphtheriebekämpfung.

Unsere Heilsera sind höherwertiger geworden. Man kann heute durch Auswahl geeigneter Serumpferde und streng individueller Immunisierungsmethoden die Pferde zu Höchstleistungen in der Bildung von Antitoxin veranlassen, so daß im nativen Serum Titer von 2000 AE/ccm und mehr erreicht werden können. Das starke Überwiegen der antitoxinhaltigen Globuline gegenüber dem Albumin im Serum so hoch immunisierter Pferde macht es verständlich, daß etwa ein Titer von 2500 AE/ccm das physiologische Höchstmaß darstellen dürfte, was ein Pferd zu erreichen imstande ist. Auch von Zweihufern (Rind, Hammel) gelingt es heute höherwertigere Sera zu erzielen, als die bis jetzt handelsüblichen von nur 100fachem Titer, so z. B. 400faches Hammel- und 500faches Rinder-Serum. Immerhin sind Zweihufer bei weitem nicht so gute Antitoxinbildner wie das Pferd.

Das native Serum hat bekanntlich die unangenehme Eigenschaft, im Laufe von wenigen Monaten seine ursprüngliche Klarheit einzubüßen. Es wird zunächst trübe und bildet dann Ausflockungen und Bodensätze. Dabei geht der anfängliche Titer etwas herab. Nach vielen Vorarbeiten, die zum Teil schon sehr lange zurückreichen, kann heute ein gewöhnliches natives Serum geliefert werden, das den Anforderungen nach bleibender Klarheit praktisch völlig und nach bleibender Wertigkeit weitgehend für die Dauer der fünfjährigen Verwendbarkeit entspricht.

Noch mehr gilt dies für die gereinigten Sera. Das Prinzip der Reinigung fußt bekanntlich auf der Erkenntnis, daß das Pseudoglobulin der eigentliche Träger der antitoxischen Wirkung des Serums ist und besteht daher in der Eliminierung der Eiweißkörper, die, wie das Albumin, nicht therapeutisch als Antitoxin wirken. In diesem Sinne können wir heute unsere Sera in besserer Form bringen als früher. Je nach dem gegebenen Verhältnis von Globulin zu Albumin im nativen Serum kann man durch die Reinigung zu relativ eiweißarmen Sera gelangen, deren Eiweißgehalt 5 % nicht überschreitet, oder man

kann bei einem Eiweißgehalt bis höchstens 12 % konzentrierte Sera herstellen. Nennen wir Sera unter 5 % eiweißarm, so ist, bedingt durch das Globulin-Albumin-Verhältnis, ein 1000faches Serum die Höchstgrenze der Wertigkeit für ein eiweißarmes Serum. Der mit zunehmender Wertigkeit geringer werdende Anteil des Albumins im Serum bringt es mit sich, daß eine Reinigung durch Entfernung des Albumins keine wesentliche Verringerung des Eiweißgehaltes mehr erlaubt, andererseits aber auch der Konzentrierungsmöglichkeit dadurch Grenzen gesetzt sind, als der zulässige Eiweißgehalt in Deutschland 12 % nicht überschreiten darf. Daher kommt es, daß im allgemeinen 2000 AE/ccm die praktische Grenze der Konzentrierung ist. Immerhin können bei besonders günstigem Globulin-Albumin-Verhältnis relativ eiweißärmer nativer Sera höhere Konzentrationen bei einem Eiweißgehalt unter 12 % erreicht werden. Doch sind dies Ausnahmen. Anders liegen die Verhältnisse, wenn, wie im Ausland die zulässige vorgeschriebene Eiweißhöchstmenge höher begrenzt ist, z. B. 18—20 %. Dann ist es natürlich möglich, höherwertige Sera von 4000 AE/ccm und mehr herzustellen. So haben die *Behringwerke* ein Diphtherie-Serum von 5000 AE/ccm bei nur 15,5 % Eiweiß herstellen können.

Bei Benutzung solcher hochkonzentriert wasserklaier und stabiler Sera kann man heute in relativ wenig Volumen sehr viel Antitoxin geben.

Sind nun mit der Verabreichung so hochwertiger Sera auch die klinischen Erfolge dementsprechend besser geworden ? Diese Frage kann man nicht ohne Einschränkung bejahen; denn Zeitpunkt und Art der Injektion sind von einschneidendem Einfluß.

Wenn es in gegebenem Fallo darauf ankommt, einem Patienten möglichst schnell viel Antitoxin zu geben, damit dasselbe möglichst rasch an das zellständige Toxin gelangt, dann ist es zweckmäßig, hochkonzentrierte Sera intravenös zu geben. Der große Vorteil liegt in dem geringen Volumen

und der sofortigen Resorption des Serums. So würde man mit 20 ccm 2000fachem Serum mit einem Schrage 40000 AE in die Blutbahn bringen, während bereits 40 ccm 1000faches Serum und 80 ccm 500faches Serum zur Erreichung des gleichen Ziels nötig wären.

Da der übliche und in Deutschland bisher vorgeschriebene Phenolgehalt der Sera in seltenen Fällen von manchen Patienten schlecht vertragen wird, sind Bestrebungen im Gange, das Phenol durch weniger toxische und doch gut konservernde Mittel zu ersetzen. Das kommt besonders für die hochwertigen Sera in Betracht, die man intravenös geben will und die auch heute ohne Phenol lieferbar wären.

Andererseits ist es zweckmäßig, bei intramuskulärer Injektion (eine subkutane Einspritzung von Serum sollte wegen der langsamen Resorption überhaupt nicht gemacht werden) therapeutisch von dem eiweißarmen Serum Gebrauch zu machen. Jedenfalls ist das konzentrierte 2000fache oder evtl. noch höherwertige Serum mit über 12 % Eiweiß für intramuskuläre Injektionen weniger geeignet, denn ausgedehnte Versuche (*A. Demnitz und W. Scholz*), die noch fortgesetzt werden, haben ergeben, daß die Resorption bei intramuskulärer Einspritzung von verschiedenem Serum gleicher Wertigkeit, aber von verschiedenem Eiweißgehalt, umso schneller verläuft, je niedriger der Eiweißgehalt ist. Diese Versuche bestätigen und ergänzen ähnliche Befunde, die *Hetsch* und *Bieling*, *Walbum*, *Szirmai* u. a. erhoben haben.

Die Frage der Dosierung hat wieder größere Beachtung erfahren, nachdem manches Versagen selbst hoher Antitoxinmengen bei den bösartigen Diphtheriefällen der letzten Jahre bei einigen sogar Zweifel an dem Werte der Serumtherapie überhaupt hat aufkommen lassen. Es steht jedoch bei allen erfahrenen Klinikern der in über 35 Jahren bewährte, praktische Wert der Serumtherapie auch heute über jedem Zweifel, nur haben unsere in erster Linie experimentell gewonnenen

Erkenntnisse über das Diphtherietoxin und -Antitoxin der letzten Jahrzehnte dazu beigetragen, die Diphtherietherapie und -Immunität zu einseitig als eine rein antitoxische hinzustellen. Solange die Diphtherie den gutartigen Charakter aufwies, den sie bei der Einführung der Serumtherapie (1894) hatte, schien sich alles in toxisch-antitoxischem Sinne erklären zu lassen. Das Wiedereinsetzen einer bösartigen Diphtherie lehrte jedoch das Revisionsbedürfnis unserer Anschauungen über das Wesen der Diphtherie-Erkrankung und der Diphtherie-Immunität.

Der diphtheriekranke Mensch sucht ärztlichen Beistand nicht wegen seiner Infektion mit Diphtheriebazillen, sondern wegen seines Krankheitszustandes. Dieser ist aber nach der Ansicht von *Jürgens* u. a. nicht die unmittelbare, sondern die mittelbare Folge des Infektes, indem die Krankheit bereits die Reaktion des sich immunisierenden Organismus auf das Diphtherie-Gift darstellt. Die Immunität ist also bereits im Entstehen, wenn die Erkrankung einsetzt und nicht erst vorhanden, wenn die Krankheit aufgehört hat. Bei der experimentellen Infektion und Vergiftung der Meerschweinchen liegen die Verhältnisse anders als beim Menschen. Viele Kinder besitzen eine natürliche Immunität gegen Diphtherie, viele andere erwerben eine solche im Laufe einer Erkrankung, was auch in der Vorserumzeit möglich war. Ist diese Immunität nun eine ausschließlich antitoxische? Wohl schwerlich, denn Untersuchungen bei Rekonvaleszenten in den Kliniken von *Jürgens* und *v. Pfaundler* zeigen, daß der Antitoxintiter des Blutserums vielfach nur $1/100$ — $1/1000$ AE betrug, also weit weniger als wir heute bei gesunden Kindern für genügend zum Schutz vor Erkrankung anzusehen pflegen.

Die Schickprobe, auf die wir weiter unten noch zu sprechen kommen, ist kein unbedingt verlässliches Maß für die Immunität. Auch Schick-negative Kinder können gelegentlich erkranken. Was wir mit der Schickprobe messen, ist eine Toxinempfindlichkeit, die nicht unbedingt mit Diphtherieempfänglichkeit gleichgesetzt werden darf.

Wir müssen also neben der antitoxischen Immunität, die wir passiv und aktiv künstlich erzeugen können, noch eine natürliche Immunität annehmen, die wir jedoch im Experiment nicht erfassen können und auch beim Menschen nicht messen können, die aber im Grunde maßgebend für das Zustandekommen einer Erkrankung nach einer Diphtherieinfektion, sowie auch für deren Heilung ist.

Wird ein nicht immuner Organismus mit Diphtherie-Bazillen infiziert, so folgt nach der Auffassung von Jürgens u. a. zunächst ein Stadium allgemeiner Störungen, in dem sich der erkrankende Organismus umstimmt. Im Laufe dieser Umstimmung gehen die Diphtherie-Bazillen, die im Körper eingedrungen sind, zugrunde und können nur noch auf der Nasen-Rachenschleimhaut, als dem Ort des primären Infektes, zusagende Wachstumsbedingungen finden, nachdem die Rachenschleimhaut, als Folge der immunbiologischen Umstimmung, gewissermaßen von innen heraus erkrankt und nun das Bild der Rachendiphtherie entstehen lässt (Jürgens). (Ein gesunder Bazillenträger zeigt keine Schleimhautreaktion.)

Die Serumtherapie erzielt daher die besten Erfolge, wenn das Serum zur Zeit der Allgemeinreaktion gegeben wird, bevor sich eine Rachen-Diphtherie entwickelt. Dann bewirkt das Serum eine beschleunigte Immunitätsbildung und eine sofortige Besserung des Allgemeinbefindens. Ist eine Rachendiphtherie bereits eingetreten, so nehmen unter Antitoxinwirkung zwar die bereits stattgefundenen pathologischen Veränderungen ihren gesetzmäßigen Ablauf, aber der Prozeß schreitet nicht weiter fort. Allerdings sind in diesem Stadium bereits höhere Antitoxingaben nötig. Ohne oder bei unzureichender Serumtherapie schreitet der Prozeß fort und es hängt dann nur von der Abwehrfähigkeit des Organismus, von der die Antitoxinbildung ein wesentlicher Teil ist, ab, ob es gelingt, dem fortschreitenden Schleimhautprozeß Einhalt zu gebieten, bevor die Toxinproduktion die Abwehrkräfte gelähmt hat.

Vor der Einführung der Serumtherapie war es demnach die körpereigene Antitoxinbildung, die zur Heilung führte und die Folge war eine gewisse Immunität. Heute, wo stets durch Serum eine passive antitoxische Immunität vermittelt wird, bleibt die Ausbildung körpereigener Antitoxine zurück und die Folge ist, daß nach Eliminierung der zugeführten artfremden Antitoxine keine genügende Immunität zurückbleibt und mehrmalige Erkrankung an Diphtherie oft zu beobachten ist. Die vorausgegangene Serumtherapie erklärt daher m. E. die von *Jürgens* und *v. Pfaundler* festgestellten oben erwähnten niedrigen Antitoxinwerte im Blute von Diphtherie-Rekonvaleszenten.

Nun hat es immer Fälle von sogenannter maligner Diphtherie gegeben, bei denen die Serumtherapie zu versagen schien. Sie waren auch *Behring* wohl bekannt, und man darf nicht vergessen, daß *Behring* sein antitoxisches Diphtherieserum in erster Linie als Prophylaktikum dachte.

Wenn man nun nach den Gründen forscht, warum zeitweise die Diphtherie in der malignen Form auftritt, bei der eine sehr schnell einsetzende, meistens irreparable Kreislaufstörung das Krankheitsbild beherrscht, so kann man, nach den Studien von *Hottinger* und anderen zu schließen, die Ursache nur per exclusionem in der jeweiligen Eigenart der betreffenden Diphtheriebazillen erblicken, ohne daß wir bis jetzt in der Lage sind, genaueres darüber anzugeben. Es ist zu hoffen, daß die neuen bedeutungsvollen Untersuchungen von *J. Hirsch* über den Chemismus der Vermehrung und der Toxinbildung bei Diphtheriebazillen dazu beitragen, maligne Diphtheriebazillen von anderen unterscheiden zu können. Nach bisherigen Beobachtungen und experimentellen Feststellungen kann man annehmen, daß zwar das von malignen Diphtheriebazillen gebildete Toxin sich nicht von dem Toxin anderer Diphtheriebazillen unterscheidet, wohl aber, daß die malignen Bazillen oftmals eine ganz ungewöhnliche Virulenz besitzen, die sie jedoch bei Weiterzüchten auf den üblichen

Nährböden bald verlieren. Diese Virulenz ist nun der Ausdruck dafür, daß sie schnell hochgradig zellavides Gift bilden. Dieses Gift wird deswegen auch sehr schnell gebunden, womit im Einklang steht, daß es selbst mit den feinsten Methoden in der Regel nicht oder nur in Spuren freies Gift im Blute an maligner Diphtherie erkrankter Kinder nachzuweisen gelingt.

Was nun die Zellen betrifft, an denen sich das Gift in erster Linie bindet, so kommen das lymphatische Gewebe sowie die freien Lymphozyten in Betracht, deren vornehmlichste Funktion nach den Vorstellungen von *v. Albertini* die Bindung von Zellgiften ist. Damit im Einklang steht die Beobachtung von *Fr. Meyer*, daß unter dem Einfluß des Diphtherieinfektes die Lymphozytenzahl relativ und vielleicht auch absolut abnimmt und eine Wendung zur klinischen Besserung durch therapeutische Antitoxingaben sich in der Zunahme der Lymphozyten widerspiegelt (*Köbner*).

Damit ist aber noch nicht die schwere Kreislaufstörung bei der malignen Diphtherie erklärt. Diese könnte dem klinischen Bilde nach zu urteilen auf einer endokrinen Störung der autonomen Nervenfunktion beruhen. Dafür spricht zunächst die schon seit Jahren dem Pathologen bekannte, neuerdings wieder experimentell und klinisch von *Fr. Meyer* festgestellte Beobachtung, daß die Hypophyse bei der malignen Diphtherie mehr oder weniger starke Veränderungen aufweist, die zwanglos als Toxineinwirkungen gedeutet werden können, wobei auch die nahen Lagebeziehungen von Hypophyse zur Rachenschleimhaut zu berücksichtigen sind. Außerdem lassen sich Veränderungen an der Thyreoidea feststellen und die Beteiligung der Nebennieren ist ja bei der experimentellen Meerschweinchendiphtherie altbekannt. Man denke auch an den erhöhten Blutzuckerwert bei maligner Diphtherie (*Hottinger, Elkeles und Heimann*).

Trotzdem ist dadurch noch nicht erwiesen, daß bei der malignen Diphtherie das schnell gebildete und hochzellavide

Gift durch Störung der Funktion endokriner Drüsen unmittelbar auf dem Wege des autonomen Nervensystems die schwere Kreislaufstörung bedingt. Sicher wirken selbst sehr geringe Di.-Toxinmengen unmittelbar auf das Herz selbst (von *Siegel* u. a. durch Elektrokardiogramm experimentell gezeigt), und *U. Friedemann* hält sich zu der Annahme berechtigt, daß das Di.-Gift an der Gefäßwand selbst oder an dem diese versorgenden, peripheren Gefäßnervensystem angreift. Weitere klinische und pathologische Arbeit wird ganz besonders der Frage nachzugehen haben, ob eine direkte oder mehr indirekte (evtl. hormonal bedingte) Toxinwirkung auf das Gefäßnervensystem vorliegt. Jedenfalls wird aber verständlich, von wie wesentlicher und ausschlaggebender Bedeutung bei maligner Diphtherie der richtige Zeitpunkt für die Serumtherapie ist, der gar nicht früh genug gewählt werden kann, wobei bei sehr frühzeitiger und öfters zu wiederholender Injektion voraussichtlich gar nicht sehr hohe Antitoxindosen nötig sein werden. Ferner ist verständlich, daß, wenn das Diphtherie-Toxin erst einmal die Kreislaufstörung bewirkt hat, selbst sehr große Antitoxinmengen unter Umständen nicht mehr imstande sind, eine Wendung zum Besseren bewirken zu können.

Zwar wird das weiterhin gebildete Toxin neutralisiert werden, aber der lokale Krankheitsprozeß kann trotzdem fortschreiten, weil zur Abwehr desselben eine Immunitätslage nötig ist, die außer dem notwendigen Antitoxin eines intakten autonomen Nervensystems und damit eng verbunden normaler endokriner Funktionen bedarf.

Folgerichtig müßte man bei maligner Diphtherie versuchen, die unbedingt notwendige antitoxische Serumtherapie durch solche Mittel zu unterstützen, die geeignet sind, die toxisch bedingte, periphere Kreislaufschwäche zu beheben. Wenn auch alle bisher in diesem Sinne therapeutisch benutzten Hormon-Präparate noch nicht zum Erfolge führten, so scheint doch dieser Weg weiter verfolgt werden zu müssen. Es ist nicht unmöglich, daß die günstigen Erfahrungen, die *Benedict* nach therapeutischen Bluttransfusionen bei maligner Diphtherie

sah, darauf beruhten, daß mit dem Blute auch die zur Behebung der evtl. endokrinen Störung nötigen hormonalen Stoffe gegeben wurden. Letzthin liegen von *Hottinger* Beobachtungen vor, denen zufolge auch antitoxinfreies Serum bei Diphtherieerkrankung auch maligner Natur therapeutisch günstig gewirkt haben soll. Immerhin traten in der Rekonvaleszenz dieser mit Leerserum behandelten mittelschweren Fälle Myokardschädigungen 3—4mal häufiger auf als bei den mit Antitoxin behandelten Kranken, so daß *Hottingers* Feststellungen von dem therapeutischen Wert des Leerserums unbedingt der Bestätigung auch von anderer Seite bedürfen. Jedenfalls müßte eine Nachprüfung auch die Möglichkeit der hormonalen Beeinflussung des Organismus durch Leerserum berücksichtigen. Aber unter allen Umständen muß durch genügende Antitoxingaben dafür gesorgt werden, daß noch entstehendes Toxin und möglichst noch nicht zu fest gebundenes Toxin neutralisiert wird, denn an der durch ungezählte Experimente und Erfahrungen gestützten Tatsache, daß Toxin durch Antitoxin und nicht durch Leerserum neutralisiert wird, ist nicht zu rütteln. Allerdings erweist sich, jedoch nur gegenüber ganz geringen Toxinmengen, die sehr weit unter einer für ein Meerschweinchen tödlichen Dosis liegen, Leerserum nicht ganz unwirksam, jedoch kann hier die Möglichkeit eines unspezifischen Reizes auf die Antitoxinbildung nicht ausgeschlossen werden und es bleibt zu beachten, daß das lymphatische System durch Bindung eine gewisse Toxinmenge unter eigener Schädigung von lebenswichtigen Zellen fernhalten kann.

Man hat bei der malignen Diphtherie eine Mischinfektion mit Streptokokken angenommen, doch ließen sich durchaus nicht in allen Fällen Streptokokken nachweisen und das klinische Bild der malignen Diphtherie spricht ebenfalls nicht für die Beteiligung von Streptokokken (*Hottinger*).

Was nun die Dosierung des antitoxischen Serums betrifft, so wird man allgemein um so weniger brauchen, je früher

eingespritzt wird und es besteht, wenn man nur früh genug einspritzt, kein Grund, von der von *Schick* angegebenen Mindestdosierung von 500 AE pro Kilo Körpergewicht abzuweichen.

Neuerdings wird von *Friedemann* u. a. empfohlen, es nicht bei einer einmaligen auch noch so hohen Antitoxindosis beenden zu lassen, sondern öfters einzuspritzen, wobei vielleicht die Verfolgung der Lymphozytenzahl im Sinne von *Fr. Meyer* einen Hinweis für die Intervalle zwischen den einzelnen Injektionen geben könnte. Besonders bei Verdacht auf maligne Diphtherie sollte so früh wie möglich eingespritzt werden und zwar unter Berücksichtigung möglichst schneller Resorption, also am besten intravenös. Alles kommt darauf an, daß das Toxin neutralisiert wird, bevor es lebenswichtige Zellen zu schädigen imstande ist. In diesem Sinne sollte jede Serumtherapie prophylaktisch sein.

Sehr instruktiv sind für diese Verhältnisse die Tierversuche gewesen, die zeigten, daß, je mehr Zeit zwischen Vergiftung und Serumgabe verstreicht, desto schwieriger die Heilung ist, d. h. desto mehr Antitoxin ist erforderlich, bis schließlich höchste Dosen nicht mehr helfen können. Als Beispiel seien die Versuche von *Schöne* angeführt, der bei Meerschweinchen je 1,5 D. l. m. Toxin und später Serum intracardial gab.

Es genügten 0,01 AE nach 15 Minuten, 0,3 AE nach 1 Stunde, 50 AE nach 2 Stunden, 1000 AE nach 2½ Stunden, wobei 500 AE nicht mehr ausreichten. Nach 2½ Stunden waren selbst 2000 AE ohne Wirkung.

Man sieht wie eine kurze Zeit bereits einen entscheidenden Einfluß haben kann. Nun wird es in der Praxis sehr schwer sein, bei bösartigen Diphtherieepidemien den Zeitpunkt der Infektion zu erfassen, denn klinische Manifestation im Rachen ist bereits eine Folge stattgehabter Immunitätsreaktion, und in seltenen Fällen kann der toxische Verlauf der Allgemeinreaktion in den ersten 12--24 Stunden bereits so schwer sein, daß selbst Hilfe in den ersten 24 Stunden zu spät kommen kann. Zwar haben die Erfahrungen von *Bie*, *Friedemann*, *Stirmai* u. a. gezeigt, daß selbst allerhöchste Dosen auch dann noch manchmal Erfolge zeitigen lassen.

Eine unangenehme Begleiterscheinung jeder Serumtherapie ist die Möglichkeit einer Serumkrankheit, die zwar als solche nicht gefährlich ist und ohne Schaden abzuklingen pflegt, die aber für den Patienten doch mit so vielen mehr oder weniger großen Unannehmlichkeiten verbunden ist, als daß nicht alles versucht werden sollte, die Serumkrankheit zu vermeiden. Es sollen hier nicht alle die zweckmäßigen Mittel aufgezählt werden, die Symptome einer bereits vorhandenen Serumkrankheit zu lindern. Sehr viel bedeutungsvoller würde es sein, entweder das betreffende

Immunserum zu verändern oder den Organismus durch entsprechende Maßnahmen so umzustimmen, daß die biologische Reaktion, die zwischen dem Serumeiweiß und den in der Zeit zwischen Seruminjektion und Ausbruch der Serumkrankheit gegen das Eiweiß gebildeten Antikörpern stattfindet, entweder nicht zustande kommen oder sich in den in Betracht kommenden Zellen nicht auswirken kann. Die Forschung weist einige bescheidene, aber immerhin zur Hoffnung auf Erfolg berechtigende Ansätze auf diesem Wege auf. Sollten die Arbeiten zum Ziele führen, dann wäre in der Serumtherapie eine große Schranke gefallen, und vor allem käme dann die Serumprophylaxe zu ihrem vollen Recht.

In der Prophylaxe der Diphtherie ist das Serum das einzige Mittel, welches wir besitzen, um unmittelbar durch Infektion gefährdete Menschen gegen Erkrankung sofort schützen zu können. Leider hält die damit passiv erworbene Immunität nicht lange an, läßt sich auch durch Erhöhung der Serummenge und Wiederholung der Einspritzung nicht über etwa drei Monate ausdehnen. Immerhin kann eine systematisch durchgeführte Serumprophylaxe die Morbidität der Diphtherie erheblich einschränken (*Braun*).

Zwei Nachteile haften der Serumprophylaxe noch an, zunächst die bereits erwähnte Serumkrankheit, die aber erfahrungsgemäß eine nur untergeordnete Rolle spielt, einmal wegen der im allgemeinen geringen Serumgabe und dann, weil es sich meistens um Kinder handelt, die relativ seltener von Serumkrankheit befallen zu werden pflegen als Erwachsene. Der zweite Nachteil ist die Möglichkeit, durch die Einspritzung von Pferdeserum gegen eine spätere Einspritzung von Heilserum bei Diphtherie oder bei einer anderen Krankheit überempfindlich zu werden, was umso schwerer wiegt, als praktisch fast alle Heilsera von Pferden gewonnen werden. Wenn auch dieser zweite Umstand in der Praxis nicht die Bedeutung hat, die man ihm aus theoretischen Erwägungen gegeben hat, so verdient er doch volle Beachtung. Aus diesem Grunde empfiehlt es sich, zur Prophylaxe Diphtherieserum zu benutzen, welches von Hammeln oder Rindern hergestellt ist. Solche Sera sind heute mit 400 und 500 AE/ccm im Handel, so daß die prophylaktisch einzuspritzende Menge sehr gering ist und daher in der Regel auch keine Serumkrankheit im Gefolge hat.

Von anderen Möglichkeiten, z. B. durch chemische Veränderung des Pferdeeiweißes diesem den Artcharakter zu nehmen, so daß es nicht mehr gegen Pferdeserum sensibilisieren kann, sind wir leider noch weit entfernt. Auch würde damit das Problem der Vermeidung der Serumkrankheit nicht berührt, sondern nur die Möglichkeit, einen evtl. primären Serumschock auszuschalten. Das einfachste wäre, das Antitoxin noch weiter vom Pferdeserungglobulin zu trennen, aber dies ist in befriedigender Weise noch nicht gelungen.

Wegen des flüchtigen Charakters des Diphtherieschutzes durch die prophylaktische Serumeinspritzung hat es bereits *E. v. Behring* als erstrebenswertes Ziel vorgeschwebt, aktiv gegen das Diphtherietoxin zu immunisieren, um so einen länger dauernden Schutz zu gewähren. Die Initiative *Behrings* wurde in Amerika großzügig aufgenommen, aber man hatte sich damals die Möglichkeit, „die Diphtherie auszurotten“, als zu einfach vorgestellt. Wir sind heute wieder bescheidener geworden, besonders seit dem Auftreten der malignen Diphtherie in den letzten Jahren. Die Probleme der Schutzimpfung stellten erneut die Fragen nach dem Wesen und dem Maß der Immunität gegen Diphtherie, und es ist schon viel erreicht mit der Erkenntnis, daß diese Fragen sehr schwierig zu beantworten sind.

Wir wissen heute, daß sich bei der großen Mehrzahl der Kinder spontan Antitoxine gegen Diphtherietoxin bilden und daß mit dem Erreichen der Pubertät die Immunität gegen Diphtherie bei den Kindern sich prozentual fast wie bei Erwachsenen verhält. Ob sich diese „serologische Reifung“ nach *v. Groer* und *Hirszfeld* spontan, d. h. ohne den immunisatorischen Reiz latenter Infektionen mit Diphtheriebazillen vollzieht oder infolge latenter Durchseuchung, ist strittig und von sekundärer Bedeutung. Wichtig ist der Umstand, daß wir mit der aktiven Schutzimpfung in diese Entwicklung eingreifen, und man hat sehr bald gelernt, daß das Alter für den Erfolg einer Schutzimpfung von ausschlaggebender Bedeutung ist. Je älter die Kinder, umso besser der Erfolg, andererseits lehrt die Morbiditätsstatistik, daß, je jünger die Kinder, um so anfälliger sie für Diphtherieerkrankung sind. Daher das Bestreben, die Schutzimpfung in der frühesten Kindheit, jedenfalls noch vor dem Schulalter, vorzunehmen und andererseits die Erfahrung, daß kein Mittel der Schutzimpfung in allen Fällen zum Erfolg führt.

Je jünger das Kind, umso energischer muß der immunisatorische Reiz wirken, um den Prozeß der Antitoxinbildung

Toxin-Antitoxin in unterneutralen Zustande besser, d. h. schneller zu immunisieren als in neutralem, sicher besser als im überneutralen Zustand, bei dem von einem gewissen Antitoxin-Überschuß an die Ausbildung einer aktiven Immunität eher gehemmt wird. Aber wir dürfen heute annehmen, daß in allen Toxin-Antitoxin-Gemischen alles Antitoxin an Toxin und alles Toxin an Antitoxin gebunden ist. Diese Bindung ist dissoziierbar und im Organismus findet eine solche Dissoziation auch statt, umso eher, je unterneutraler das Gemisch ist und je frischer es zur Anwendung kommt. Mit der Zeit werden alle Toxin-Antitoxin-Verbindungen fester und damit ihre Spaltbarkeit erschwert und ihr Immunisierungseffekt herabgesetzt. Dieser Zeiteinfluß zeigt sich am markantesten bei dem unterneutralen Toxin-Antitoxin besonders, wenn zu seiner Herstellung ein frisches Serum genommen wird. Daher hat das unterneutrale Toxin-Antitoxin nur eine geringe Haltbarkeit von höchstens acht Wochen. Länger ist dieselbe bei den neutralen Toxin-Antitoxin-Gemischen.

Der Umstand, daß die Toxin-Antitoxin-Gemische in dem Maße wirksam sind, als sich Gift abspaltet, bringt es mit sich, daß dieselben mehr oder weniger lokale Reizerscheinungen hervorrufen können, die zwar in durchaus erträglichen Grenzen zu bleiben pflegen.

Da die Serummenge in den Toxin-Antitoxin-Gemischen immerhin so hoch ist, selbst wenn man hochwertiges Serum zur Herstellung benutzt, daß vielfach das Entstehen von Überempfindlichkeit gegen das verwendete Pferdeserum zur Beobachtung kam, so benutzt man heute prinzipiell nur Sera von Ziegen, Hammeln oder Rindern. Die Präparate der *Behringwerke Marburg* sind ausschließlich mit Rinderserum hergestellt. Es ist daher bei ihrer Verwendung die Gefahr ausgeschlossen, das betreffende Kind gegen eine spätere Einspritzung von Heilserum von Pferden überempfindlich zu machen.

Ein weiterer Nachteil ist darin gegeben, daß man wegen zu starker Lokalreaktion die Giftmenge nicht zu groß nehmen darf. Daher müssen alle Toxin-Antitoxin-Präparate mehrmals in Intervallen eingespritzt werden, was erfahrungsgemäß die Durchführung einer Schutzimpfung in größerem Maßstabe zu erschweren pflegt.

Das Bestreben war daher berechtigt, einen Impfstoff darzustellen, der nur einmal verwendet zu werden braucht. Dies war nur möglich, wenn es gelang, sehr viel mehr Gift einzuführen, aber in einer festeren Bindung, die dadurch auch sehr viel längere Zeit zur Aufspaltung benötigte.

Auch das T.-A.-F. hat neben Vorteilen auch Nachteile. Die Vorteile liegen darin, daß das Präparat gar keine lokalen oder allgemeinen Reaktionen hervorruft und daß in vielen Fällen, besonders, wenn es sich um ältere Kinder oder Pflegepersonal handelt, erfahrungsgemäß eine einmalige Einspritzung genügt. Dies läßt sich jedoch nicht verallgemeinern und die Erfahrung hat gezeigt, daß bei Kindern im Spielalter, also zu einer Zeit serologischer Unreife, eine einmalige Einspritzung in der Regel nicht ausreicht. Man wird also in solchen Fällen besser zweimal oder dreimal spritzen, wozu man sich umso leichter entschließen dürfte, da die Einspritzung den Kindern keine Beschwerden zu machen pflegt. Nur empfiehlt es sich, bei T.-A.-F., die Intervalle länger zu nehmen wegen der langsamem Entfaltung der Wirkung des Impfstoffes, und damit kommen wir auf die Nachteile des Präparates zu sprechen. Bei keinem Diphtherie-Schutzmittel dauert die Erreichung einer genügenden aktiven Immunität solange als beim T.-A.-F. Immerhin braucht dieser Umstand bei einer prophylaktischen Schutzimpfung in diphtheriefreien Zeiten keine Rolle zu spielen.

T.-A.-F. muß aus Pferdeserum hergestellt werden, weil sich nur das Pferdeserum zur Herstellung von Flocken im Gegensatz zu Rinder- oder Hammelserum eignet. Die Eiweißmenge, die sich in 1 ccm des Impfstoffes befindet, beträgt höchstens 0,0001 g. Wenn diese Menge auch erwiesenermaßen genugt, um ein hochempfindliches Meerschweinchen gegen eine Reinkjection zu sensibilisieren, so darf man die Erfahrungen am Tier nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen. Im allgemeinen sind Menschen nicht leicht zu sensibilisieren, und es gibt Hunderte von Beispielen, wo Menschen früher Pferdeserum gegen Diphtherie bekommen haben, die später sogar intravenöse Injektionen von Pferdeserum (gegen Scharlach, Streptokokken, Ruhr, Tetanus usw.) erhalten haben, ohne daß sich Schocksymptome bemerkbar machen. Natürlich gibt es Menschen, die sich leicht gegen allerhand verschiedene Allergene sensibilisieren, darunter auch gegen Pferdeeiweiß, und es ist durchaus möglich, daß beim Genuss von Pferdefleisch mehr genuines Pferdeeiweiß in die Blutbahn gelangen kann, als eine T.-A.-F.-Dosis enthält. Nur werden sich nur ganz vereinzelte, besonders disponierte dadurch sensibilisieren. In der Praxis der Immunisierung mit T.-A.-F. zeigten sich keine Störungen wegen Überempfindlichkeit. Die Berichte von *Bernhardt*, nach denen bei mit T.-A.-F. immunisierten Kindern gelegentlich einer späteren Pferdeserumeinspritzung (z. B. gegen Scharlach) gehäuftes Auftreten von Serumkrankheit beobachtet wurde, entbehren der Beweiskraft, um dies auf die vorausgegangene T.-A.-F.-Einspritzung ursächlich zurückzuführen. Nicht die Anzahl der Serumkrankheitsfälle, denn für diese sind auch noch andere Faktoren ausschlaggebend, sondern das zeitlich besonders frühe Auftreten wurde für eine Sensibilisierung sprechen und die von *Bernhardt* angegebenen Zeiten von einer Woche und mehr liegen durchaus in der Norm bei Serumkrankheit. Der von *Epstein* und *Klein* (1931) berichtete Fall von Schock nach intramuskulärer Einspritzung von Pferdeserum vier Wochen nach einer T.-A.-F.-Einspritzung ist sicher eine große Ausnahme, — *Bernhardt* hatte bei keinem seiner Fälle Schock gesehen — und betrifft höchstwahrscheinlich ein Kind,

das sich nur auf Grund konstitutioneller Veranlagung durch 0,0001 g Eiweiß so hochgradig sensibilisierte, wie es sonst beim Menschen durch diese Eiweißmengen nicht zu erreichen ist. In der Praxis der Schutzimpfung brauchen solche Ausnahmefälle nicht berücksichtigt zu werden in Anbetracht der Möglichkeit, bei evtl. späterer Reinkjection von Serum die bestehende Überempfindlichkeit zu erkennen (Intrakutanprobe), um dem Zustandekommen einer Schockwirkung vorzubeugen.

Jedenfalls sollte man auch bei intramuskulären Einspritzungen großer Serummengen stets an die Möglichkeit denken, daß es bei der Injektion rein mechanisch zur Eröffnung weiter Lymphspalten kommen kann, die eine schnelle Resorption des Serums ermöglichen, und in solchen Fällen vorher eine Intrakutanprobe machen. Im Falle von *Epstein* und *Klein* wäre die hochgradige Überempfindlichkeit dadurch vorher erkannt worden. Im übrigen besteht die Hoffnung, in Zukunft durch die oben erwähnte chemische Änderung des Serum eiweißes, auch diesen dem T.-A.-F. noch anhaftenden Nachteil beseitigen zu können.

bleiben einige refraktäre Fälle, für die eben ein konstitutionelles Unvermögen zur Antitoxinbildung angenommen werden muß. Weitere Erfahrungen müssen zeigen, ob die Reinigung nicht die immunisierende Wirkung herabsetzt, die nur durch eine das Präparat verteuernde Konzentrierung wieder ausgeglichen werden kann.

Ein weiterer Vorteil aller Formoltoxide ist ihre sehr lange Haltbarkeit, die bedeutend größer ist als bei allen anderen Toxin-Antitoxin-Präparaten.

Nachdem die Immunisierung von Pferden zwecks Serumgewinnung den großen Wert der subkutanen Depotbildung des Antigens gezeigt hatte und die Brauchbarkeit der Flocken-Präparate sicher sich zum Teil auf ihrer Depotwirkung gründet, hat man auch versucht, Anatoxine durch Aluminiumsalze auszuflocken und aus diesen Flocken Präparate herzustellen (*Glenny*), mit denen zwar eine genugende Immunität mittels nur einer Injektion erzielt werden kann, die jedoch bisherigen Erfahrungen nach schmerzhafte Lokalreaktionen bedingen

Alle bisher erwähnten Präparate für die Schutzimpfung müssen eingespritzt werden. Es gibt aber in der Praxis der Schutzimpfung viele Widerstände gegen eine Einspritzung, so daß eine Methode, die bei kleinen Kindern ohne Einspritzung auskommen würde, sicher großen Anklang finden würde. Eine orale Immunisierung hat sich bisher nicht bewährt. Es ist auch unwahrscheinlich, daß man in Zukunft damit mehr Erfolg haben dürfte, obwohl das letzte Wort zu dieser Frage noch nicht gesprochen werden kann. Zahlreicher waren die Versuche, auf perkutanem Wege zu immunisieren. Das Verdienst, diesen Weg zuerst in der Praxis beschritten zu haben, hat *Lowenstein*, der mit einer Anatoxin enthaltenden Salbe, die in die vorher entfettete Haut eingerieben werden soll, gute Erfolge gehabt zu haben angibt.

Die Brauchbarkeit dieser Methode wurde zwar von *Stransky*, *Isabolinski*, *Jakopp*, *Nobel* u. a. bestätigt, von den meisten Untersuchern, die auch Tierversuche machten, energisch abgestritten (*Otto*, *Kolle*, *S. Schmidt* u. a.).

Diese widersprechenden Ergebnisse lassen sich z. T. wohl durch die Verschiedenheit der betreffenden Kinder bezüglich Alter und serologischer Reife erklären. Vielleicht ist auch Verschiedenheit der Technik schuld. Jedenfalls sollte man aber vorsichtig sein, aus mißglückten Tierversuchen eine Unbrauchbarkeit für die Immunisierung bei Kindern zu folgern, denn die Haut des Menschen ist ein von der Tierhaut sehr verschiedenes

Organ. Die Versuche, mittels Anatoxinsalben zu immunisieren, können noch keineswegs als abgeschlossen gelten (*Bürgers*), wenngleich die bisher erzielten Erfolge nicht sehr ermutigen, auf diesem Wege weitere Versuche zu machen.

Wir sehen also, daß vorderhand nur die Toxin-Antitoxin-Mischungen, das T.-A.-F. und das Formoltoxoid (Anatoxin) für die Praxis in Frage kommen und aus den Vor- und Nachteilen dieser Präparate ergeben sich folgende Richtlinien für die Wahl eines Schutzmittels:

Sofort einsetzenden Schutz gewährt allein die Serum-einspritzung.

Wünscht man der passiven und in einigen Wochen abklingenden Immunität eine aktive Immunität anzuschließen, so muß man beachten, daß man zunächst das Abklingen der passiven Immunität abzuwarten hat, da in diesem Zustande der Organismus sich nur träge aktiv immunisieren läßt. Die Wirkung ist vergleichbar mit der Einspritzung von zu hoch überneutralisierten T.-A. Ferner ist zu beachten, daß man kein Präparat verwenden sollte, welches das gleiche Serum enthält, wie das zur Vermittlung der passiven Immunität benutzte. Hat z. B. das Kind eine prophylaktische Serum-einspritzung mit Diphtherieserum vom Rind erhalten, dann sind die Toxin-Antitoxin-Präparate, die zur Zeit von Rinderserum hergestellt werden, nicht sofort anwendbar, da in einem solchen Falle die Ausbildung einer aktiven Immunität aus biologischen Gründen gehemmt wird.

In einem solchen Falle käme T.-A.-F. (mit Pferdeserum hergestellt) oder Anatoxin in Betracht.

Handelt es sich um eine aktive Schutzimpfung bei Kindern, dann ist besonders das Alter zu beachten. Kinder bis zu zehn Jahren erhalten zweckmäßig entweder Toxin-Antitoxin unterneutral oder neutral, und zwar drei Einspritzungen oder T.-A.-F. mindestens zwei Einspritzungen. Anatoxin ist wegen seiner Reaktionen nur Kindern bis zu sechs Jahren zu geben, und zwar ebenfalls dreimal. (Wenn über die gereinigten Anatoxine mehr

Erfahrungen vorliegen, käme evtl. für alle Kinder dieses Präparat in Betracht.)

Ältere Kinder und Erwachsene erhalten am besten T.-A.-F. Bei Kindern über 14 Jahren und bei Erwachsenen dürfte eine Einspritzung genügen. Die Immunisierung gelingt am schnellsten mit Anatoxin, am langsamsten mit T.-A.-F.

Was nun die Beurteilung des Erfolges einer Schutzimpfung betrifft, so haben wir gesehen, daß die Schickprobe zwar in der Regel bei vorher positiv reagierenden Kindern negativ geworden ist, daß man aber in der Schickprobe keinen unbedingt zuverlässigen Maßstab für eine genügende Immunität gegen Diphtherie hat. Auch die Feststellung des Antitoxintiters im Blut ist kein Maß für die potentielle Immunität, sondern erlaubt nur die Beurteilung eines temporären Immunitätszustandes. Immunität ist viel zu komplex, um nur mit einer Variablen fixiert werden zu können.

Der einzige Maßstab für die Beurteilung des Erfolges einer durchgeführten Schutzimpfung ist der statistische Vergleich der Morbidität vor- und nachher und auch nur dann, wenn der Charakter der Diphtherie nicht im Abflauen begriffen ist, sondern seine Strenge erhalten oder sogar maligne zugenommen hat. Unter Zugrundelegen dieses Maßstabes haben die in Berlin 1928 in größerem Umfange vorgenommenen Schutzimpfungen zu einem Erfolge geführt (*Seligmann*), der ein weiteres Vorgehen in dieser Richtung rechtfertigt.

Wir sehen: Manches ist erreicht, aber vieles, sogar sehr vieles bleibt noch zu tun übrig. Trotzdem könnten wir uns glücklich schätzen, wenn wir gegen andere Kinderkrankheiten, wie z. B. Keuchhusten, der viel mehr Opfer fordert als die Diphtherie oder die Kinderlähmung, ähnliche Waffen besäßen, wie zur Zeit gegen die Diphtherie.

Literaturangaben einiger neuerer Arbeiten.

Jürgens: Med. Welt 1931, Nr. 10 und 11.

v. Albertini: Schweiz. med. Wschr. 1932, 745.

Benedict: Klin. Wschr. 1932, 1549.

J. Hirsch: Zeitschr. f. Hyg. 1932, 114, 195.

Vortrag bei der Tagg. d. Dtsch. mikrobiol. Ges. in Gießen 1932.

A. Hottinger: Über die maligne, sog. *toxische Diphtherie*. S. Karger, Berlin 1932.

U. Friedemann: Deutsche med. Woch. 1932, Nr. 42 u. 43.

J. v. Bokay: Ergeb. d. inn. Med. 1932, Bd. 42 u. 43.

Suprarenin und verwandte Verbindungen für die Lokalanästhesie

D.R. O. SCHAUmann

Aus dem Pharmakologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG., Werk Hoechst

Obwohl die Anwendung der lokalen Schmerzbetäubung infolge ihrer großen Vorteile gegenüber der allgemeinen Narkose besonders bei kleinen Eingriffen nach anfänglichen Widerständen bald zahlreiche Anhänger fand, konnte sie sich doch erst allgemein durchsetzen, als *Braun* die Kombination mit Suprarenin in die Lokalanästhesie einführte. Die Vertiefung und Verlängerung der Anästhesie durch den Zusatz kleiner Suprarenin-Mengen und der Ersatz des nicht ungefährlichen Kokains durch das viel ungiftigere Novocain ermöglichen erst die Durchführung auch großer Operationen in reiner Lokalanästhesie. Durch die gefäßverengernde Wirkung des Suprarenin wird bewirkt, daß das Lokalanästheticum an der Injektionsstelle liegen bleibt. Dadurch wird zweierlei erreicht: Die Anästhesie hält länger an und die Gefahr einer resorptiven Vergiftung durch das Lokalanästheticum wird auf ein Minimum reduziert. Bei der Oberflächenanästhesie, besonders an der Nasenschleimhaut, geht damit eine abschwellende und anämisierende Wirkung Hand in Hand.

Für die entgiftende Wirkung des Suprarenin-Zusatzes ein Beispiel:

Entgiftung des Pantocain durch Suprarenin-Zusatz bei subkutaner Injektion am Kaninchen.

Dosis in mg pro kg	Suprarenin- Zusatz in Tropfen pro 100 ccm	Ergebnis
40	2	Nach 45 Minuten Atemlähmung u. Exitus
40	5	Nach 45 Minuten Atemlähmung u. Exitus
50	10	Seitenlage, leichte Krämpfe, sämtliche Tiere überleben (3 Tiere)
70	20	Seitenlage, leichte Krämpfe, überlebt
100	30	Schwere Vergiftung, überlebt
100	50	Seitenlage, keine Krämpfe, überlebt

Bei Zusatz von 10 Tropfen Suprarenin-Lösung 1 : 1000 auf 100 ccm 0,5 %iger Pantocain-Lösung wird also vom Kaninchen bereits die doppelte Dosis letalis, die beim Pantocain etwa 20 mg pro kg s. c. beträgt, subkutan vertragen; bei 50 Tropfen Suprarenin 1 : 1000 auf 100 ccm Lösung erhöht sich die tödliche Dosis subkutan auf mehr als das Fünffache. Diese entgiftende Wirkung des Suprarenin-Zusatzes erklärt auch die scheinbare Toxizitätszunahme oxydierter, gelbgefärbter Novocain-Suprarenin-Lösungen (*Langecker*). Infolge der Zerstörung des Suprarenin in diesen Lösungen fällt seine resorptionshemmende Wirkung fort und die Toxizität der Lösung steigt bei s. c. Injektion scheinbar an; im Gegensatz dazu nimmt bei i. v. oder i. p. Injektion, bei der ein Einfluß des Suprarenin auf die Resorptionsgeschwindigkeit wegfällt, die Toxizität eher etwas ab. Diese rein mechanische Wirkung des Suprarenin, das Festhalten des Anästheticums am Injektionsort, dürfte aber wohl nicht die einzige Ursache für die zu beobachtende bedeutende Vertiefung der Anästhesie sein; man muß wohl mit *Rentz* annehmen, daß das Suprarenin die Nervenendigungen für den Angriff des Anästheticums irgendwie empfindlicher macht.

Hat somit das Suprarenin wesentlich zum Siegeszug der Lokalanästhesie beigetragen, so haften seiner Anwendung doch auch gewisse Mängel an: Das Suprarenin ist als basisches Di-oxyphenol oxydierenden Einflüssen leicht zugänglich. Sein erstes Oxydationsprodukt, das „Omega“ von *Bruno Kisch*, ist infolge seiner vermutlich chinoiden Struktur ein sehr reaktionsfähiger Stoff und als Wasserstoffakzeptor hochwirksam. Novocain-Suprarenin-Lösungen beginnen sich beim Stehen an der Luft, falls nicht entsprechende Stabilisatoren zugesetzt sind, unter Abnahme der Wirksamkeit allmählich gelblich zu verfärben. Daß dabei irgendeine chemische Bindung zwischen dem Novocain und dem chinoiden Suprarenin-Oxydationsprodukt eine Rolle spielt, ist sehr wahrscheinlich.

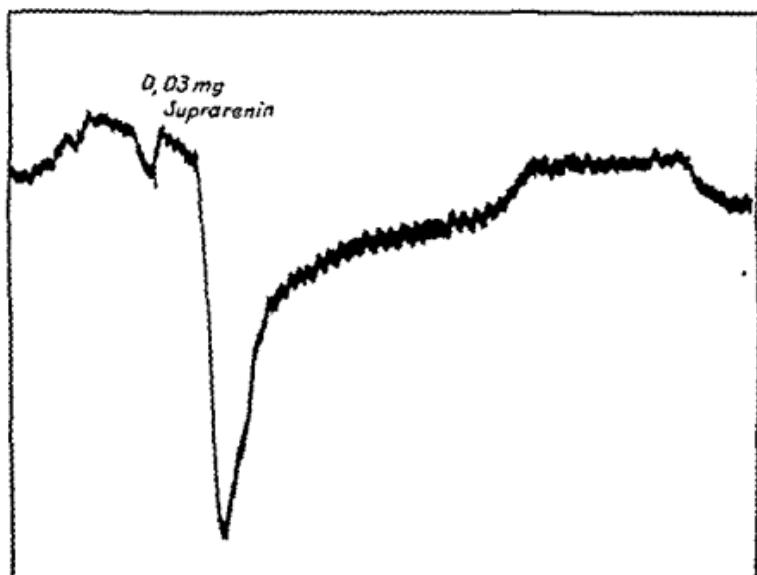
Außer dieser unangenehmen Eigenschaft, die eigentlich mehr ein chemisch-technisches Problem ist und vielleicht noch den Vorteil in sich birgt, vor der Verwendung nicht mehr einwandfreier Lösungen zu warnen, kann das Suprarenin aber neben der erstrebten lokalen Wirkung unter besonderen Umständen auch weniger erwünschte Allgemeinwirkungen entfalten.

Wenn auch das Suprarenin wegen der lokalen Vaskonstriktion sich selbst den Weg in den allgemeinen Kreislauf versperrt, so kann doch infolge unbeabsichtigter intravenöser Injektion oder bei Injektion in entzündete oder sonst stark durchblutete Gebiete ein genügender Anteil in den allgemeinen Säftestrom gelangen, um unerwünschte Nebenerscheinungen am Kreislaufapparat auszulösen. Meist beschränken sich diese im großen und ganzen ja recht seltenen Allgemeinerscheinungen auf Herzklopfen, Kopfschmerzen, Schweißausbruch, Händezittern usw., Erscheinungen, die jetzt wohl allgemein als Nebenwirkungen des Suprarenin und nicht etwa des verwendeten Lokalanästheticums erkannt sind. Es gibt nun aber Personen, die für derartige Nebenwirkungen des Suprarenin besonders disponiert sind. Es sei hier weniger an Leute mit ausgesprochenen Thyreotoxikosen gedacht, deren erhöhte Suprarenin-Empfindlichkeit infolge der vermehrten oder vorsichtiger ausgedrückt abnormalen Schilddrüsenfunktion ja bekannt ist, ebensowenig auch an sonst kreislaufkranke Menschen, bei denen eine weitere Belastung des Kreislaufapparates mit einem so ausgesprochen kreislaufwirksamen Stoff wie das Suprarenin natürlich ein großes Risiko in sich schließt. Aber auch im übrigen scheinbar ganz normale Menschen können unter Einwirkung geringster Suprarenin-Mengen kollapsartige Zustände bekommen. Auffallender und bezeichnenderweise treten diese Erscheinungen gerade bei Injektion kleinster Mengen ein, wie sie in der Praxis des Zahnarztes und in der Rhinolaryngologie gebraucht werden. Bei der Geringfügigkeit der Eingriffe sind in diesen Fällen die Nebenerscheinungen besonders überraschend und für Arzt und

Patienten gleich unangenehm. Bei der Kleinheit der hier in Betracht kommenden Dosen ist die Ursache nicht in einem Versagen des zentralen Kreislaufmotors infolge Überbelastung durch die periphere Gefäßverengerung zu suchen; es dürfte sich mit großer Wahrscheinlichkeit vielmehr um einen zentral ausgelösten Vorgang handeln. Ähnliche Erscheinungen lassen sich auch im Tierexperiment hervorrufen. Während nämlich Suprarenin bei größeren Dosen in erster Linie blutdrucksteigernd wirkt, sind unter gewissen Umständen auch inverse Effekte zu erzielen. Bekannt ist, daß Suprarenin in kleinsten Dosen bei Katzen und Hunden geringe Blutdrucksenkung machen kann, die ihre Erklärung darin zu finden scheint, daß es außer den sympathischen Vasokonstriktoren auch ebenso durch Suprarenin erregbare Dilatatoren gibt, eine Anschauung, die bereits auf *Dale* zurückgeht und erst kürzlich von *Burn* wieder vertreten wurde. Nach den Untersuchungen von *Hartmann, Gruber, Dale* und *Richards* u. a., die durch *Rein* mit seiner schönen Methode der Thermostromuhr ihre Bestätigung fanden, sind es in erster Linie die Muskelgefäße, die sich unter kleinen Suprarenin-Mengen erweitern. Außer dieser bekannten Blutdrucksenkung geringen Ausmaßes kann es im Tierversuch unter geeigneten Bedingungen aber auch zu kollapsähnlichen Blutdruckstürzen kommen, die auf die erläuterte Weise nicht mehr erklärt werden können. An Katzen in Urethannarkose mit hohem Blutdruck lassen sich durch intravenöse Injektion kleiner bis mittlerer Suprarenin-Mengen derartige brüskie Senkungen erzielen. Ein Beispiel hierfür möge Kurve 1 geben.

Über den Mechanismus dieser Erscheinung können vorläufig nur mehr oder minder begründete Vermutungen aufgestellt werden. Eine durch das Suprarenin direkt bewirkte periphere Gefäßerweiterung kommt nicht in Betracht. Dafür sind die Senkungen zu stark und zu plötzlich. Auch eine übersteigerte regulatorisch-reflektorische Gefäßerweiterung über den Sinus caroticus im Sinne der *Heringschen* Untersuchungen

kommt kaum in Frage, da die der Senkung vorausgehende, eine derartige reflektorische Senkung eventuell auslösende Drucksteigerung zu gering ist und häufig ganz fehlen kann. Es bleibt nur die Möglichkeit, daran zu denken, daß das Suprarenin direkt einen zentralen drucksenkenden Vorgang auslöst. Als efferente Bahn kommt hierfür wohl in erster Linie der Vagus in Betracht, worauf die mit der Drucksenkung einhergehende Pulsverlangsamung, die im Gegensatz zu der



Kurve 1: Katze 3 kg, Urethannarkose. Brüske Blutdrucksenkung um 90 mm Hg nach 0,03 mg Suprarenin ohne vorhergehende Blutdrucksteigerung

normaler Weise zu erwartenden Darmhemmung durch Suprarenin gleichzeitig einsetzende starke Darmperistaltik und die fast oder ganz ausbleibende Senkung nach Vagusdurchschneidung oder Atropinisierung hindeutet. (Kurve 2 und 3.) Eine periphere Wirkung auf den Vagus, an die man wegen der von einigen Seiten behaupteten amphotropen Wirkung des Suprarenin denken könnte, kommt nicht in Frage, da sie sonst durch Vagotomie nicht aufzuheben wäre. Am besten könnte die Erscheinung durch eine direkte Erregung des Vaguszentrums erklärt werden. Daß Suprarenin eine derartige

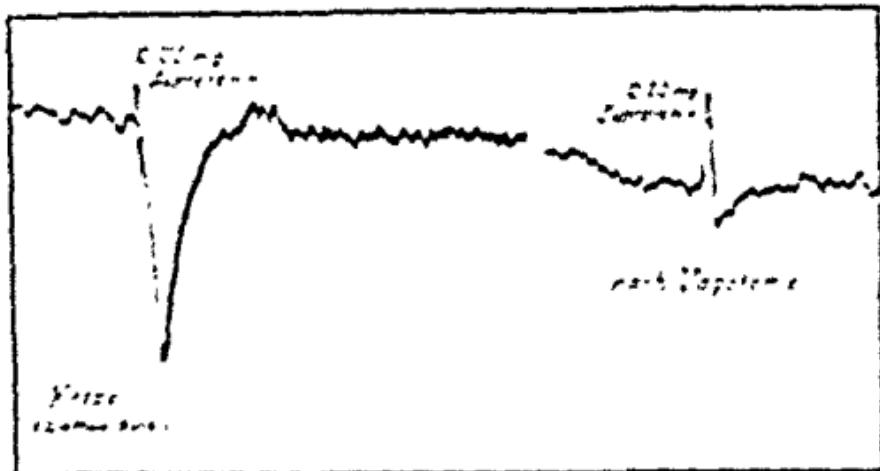


Figure 2. Heart rate variability during a Valsalva maneuver.

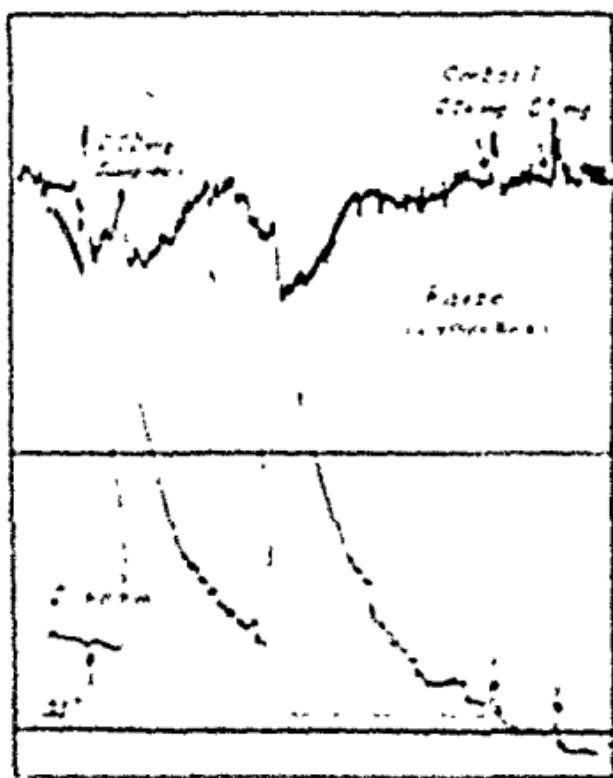


Figure 3. Heart rate variability during a Valsalva maneuver. The top panel shows heart rate in beats per minute (bpm) over time. The bottom panel shows the corresponding HRV spectrum.

Figure 3 shows that the heart rate variability spectrum during a Valsalva maneuver is similar to that during a Valsalva maneuver in healthy subjects. The increase in heart rate variability during a Valsalva maneuver is due to an increase in low-frequency power.

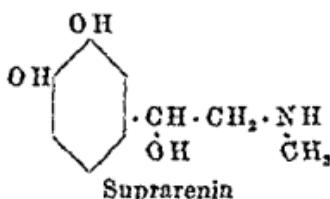
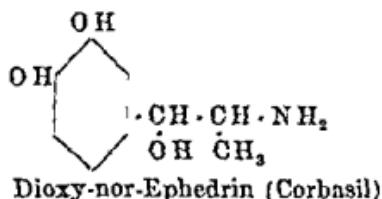
zentrale Vaguswirkung hat, geht aus den Arbeiten von *Heinekamp, Brown* sowie *Anrep* und *Segall* hervor.

Diese Nebenwirkungen des Suprarenin haben schon lange den Wunsch erregt, es in der Lokalanästhesie durch andere gefäßverengernde Stoffe zu ersetzen. Als die blutdrucksteigernde Wirkung des Ephedrins durch *Chen* neu entdeckt wurde, versuchte man, das Suprarenin durch dieses zu substituieren. Aber es stellte sich bald heraus, daß das Ephedrin in dieser Beziehung keine mit dem Suprarenin vergleichbare Wirkung hat. *Read* zeigte, daß das Ephedrin zwar imstande ist, die Novocain-Anästhesie etwas zu verstärken, daß diese Wirkung aber nur bei relativ hohen Konzentrationen zu erzielen ist und nicht auf eine gefäßverengernde Wirkung, sondern vielmehr auf eine dem Ephedrin selbst zukommende geringe anästhesierende Kraft zurückzuführen ist, so daß man in der üblichen Novocain-Suprarenin-Kombination eher das Novocain als das Suprarenin durch Ephedrin ersetzen könnte. Zum gleichen Ergebnis gelangten auch *Kochmann, Lundy* sowie *Stockton, Pace* und *Tainter*. In eigenen Versuchen wurde das gleiche gefunden und festgestellt, daß von allen oft und unrichtig als „Suprarenin-Ersatzmittel“ bezeichneten, aromatischen Aminen keines imstande ist, eine dem Suprarenin auch nur qualitativ ähnliche Wirkung in der Lokalanästhesie zu entfalten. Weder das Ephedrin noch seine Mono-oxyderivate, noch auch die vom Suprarenin sich ableitenden Verbindungen, die am Benzolkern

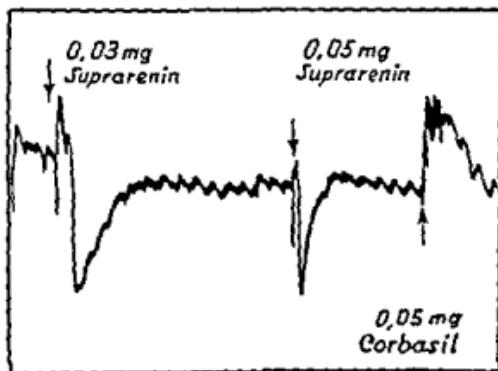
Eigenschaften, wenn auch in geringerem Maße als das Kokain, besitzt. *Tainter* und Mitarbeiter machten nun die Beobachtung, daß diese sensibilisierende Wirkung des Kokains nur gegenüber dem Suprarenin eintritt, nicht aber gegenüber Ephedrin und verwandten Verbindungen. Er schloß daraus, daß der Wirkungsmechanismus des Suprarenin grundlegend verschieden von dem der anderen erwähnten Verbindungen sein muß; er forderte für das Suprarenin eine nervöse, „sympathikotrope“, für das Ephedrin usw. eine „muskulotrope“ Wirkungsweise. In eigenen Versuchen wurden diese Befunde bestätigt und der Nachweis geführt, daß diese sympathikotrope Wirkung nur die Verbindungen haben, die wie das Suprarenin zwei phenolische Hydroxylgruppen in 3,4-Stellung tragen. Auch den Mono-oxy-Verbindungen kommt diese Eigenschaft noch nicht zu; allerdings besteht hier bereits auch in pharmakologischer Hinsicht eine gewisse Annäherung an den Suprarenin-Typ: Während nämlich die Blutdruckwirkung des Ephedrins und der Verbindungen ohne phenolisches Hydroxyl durch Kokain stark abgeschwächt oder aufgehoben wird, wird sie bei den Mono-oxy-Verbindungen nur wenig oder gar nicht beeinflußt, und zwar werden die Verbindungen je nach Stellung der OH-Gruppe in der Reihenfolge ortho, para und meta dem Suprarenin immer ähnlicher. Eine Verstärkung der Blutdruckwirkung tritt aber erst nach Eintritt der zweiten OH-Gruppe auf. Das gleiche gilt auch für die Verlängerung und Vertiefung der Lokalanästhesie; auch hier ist die Anwesenheit von zwei phenolischen Hydroxylgruppen Voraussetzung. Es scheint also eine wechselseitige Beziehung zwischen Lokalanästhetica und Gefäßmitteln zu bestehen; diejenigen Körper, deren Blutdruckwirkung (d. i. Gefäßwirkung) durch Kokain verstärkt wird, sind auch umgekehrt — wahrscheinlich eben deshalb — imstande, die Wirkung der Lokalanästhetica zu verstärken.

Es wurde nun versucht, unter diesen Verbindungen eine aufzufinden, die das Suprarenin in der Lokalanästhesie zu ersetzen

vermag, ohne dessen oben angeführte Nebenwirkungen zu entfalten. Das 3,4-Dioxy-nor-Ephedrin (Corbasil) von der Formel



scheint diese Bedingungen zu erfüllen. Entsprechend seiner nahen chemischen Verwandtschaft zum Suprarenin sind auch seine pharmakologischen Eigenschaften diesem sehr ähnlich. Bei der Prüfung an der urethanisierten Katze zeigte sich jedoch ein auffallender Unterschied: Der oben erwähnte brüskie Blutdrucksturz blieb hier aus oder war nur angedeutet (Kurve 4).



Kurve 4: 0,03 und 0,05 mg Suprarenin machen starke Blutdruckstürze, während 0,05 mg Dioxy-nor-Ephedrin (Corbasil) nur Blutdrucksteigerung macht

Das legte den Gedanken nahe, daß das Präparat auch bei der Anwendung in der Lokalanästhesie keine Nebenwirkungen mehr hervorrufen würde. Die ausgedehnte klinische Prüfung, besonders in der Zahnheilkunde, bestätigte nun diese Vermutung in vollem Ausmaße. Auch Patienten, die als Suprarenin-empfindlich bekannt waren, vertrugen nun die Lokalanästhesie ohne die geringsten Nebenerscheinungen. Selbst bei Herzkranken und Basedow-Patienten konnten Lokalanästhesien

vorgenommen werden, ohne daß Erscheinungen von seiten des Kreislaufes aufraten.

Über die Pharmakologie des 3,4-Dioxy-nor-Ephedrins, über die schon an anderer Stelle¹⁾ kurz berichtet wurde, seien hier zusammenfassend die wichtigsten Daten gebracht: Der Blutdruck von Katze, Hund und Kaninchen wird gesteigert: der Verlauf der Kurve ähnelt sehr einer Suprarenin-Kurve, ist jedoch etwas protrahierter. Vorherige Kokaingabe verstärkt die Blutdruckwirkung ganz erheblich, Ergotamin schwächt sie ab und führt unter Umständen sogar zur Umkehr in eine Senkung.

Der isolierte Darm wird gehemmt, der Kaninchenuterus erregt. Die isolierten Hautgefäße des Kaninchenohres werden verengt, die Tätigkeit des Kalt- und Warmbluterherzens wird gefördert. Nach subkutaner Injektion tritt Hyperglykämie ein, also ein dem Wirkungsbild des Suprarenin sehr ähnliches Verhalten. In quantitativer Hinsicht ist es etwa 5 bis 10mal schwächer wirksam als Suprarenin. Dem entspricht auch seine geringere absolute Toxizität, die je nach der verwendeten Tierart und der Applikationsweise ein wechselndes Verhältnis zu der des Suprarenin zeigt:

Letale Dosen in mg pro kg:

Tierart	Dioxy-nor-Ephedrin		Suprarenin	
	i.v.	s.c.	i.v.	s.c.
Maus	10—15	50—100	—	4—5
Ratte	8	—	0,15	—
Kaninchen	1—2	—	0,1—0,2	—

Toxizitätsverhältnis Dioxy-nor-Ephedrin : Suprarenin:

Maus s.c. 1:10 bis 1:20

Ratte i.v. 1:50

Kaninchen i.v. 1:10

Für die Praxis, besonders bei der Infiltrations- und Leitungsanästhesie im Gebiet des Mundes und Nasenrachenraumes, spielt diese absolute Toxizität übrigens keine ausschlaggebende Rolle,

¹⁾ Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 160, S. 148, 173.

da die hier zur Verwendung kommenden Mengen ja stets nur wenige Zehntelmilligramme betragen.

Im Quaddelversuch wurde festgestellt, daß zur Erzielung einer gleichwertigen Anästhesie vom Dioxy-nor-Ephedrin etwa die fünf- bis zehnfache Menge benötigt wird wie vom Suprarenin:

Durchschnittliche Dauer der kompletten Anästhesie einer Hautquaddel mit 0,1 ccm $\frac{1}{4}\%$ iger Novocain-Lösung unter Zusatz von:

Suprarenin		Dioxy-nor-Ephedrin	
0,0005 %	0,001 %	0,001 %	0,0025 %
53'	über 60'	18'	45'

Die klinische Erprobung der Kombination von Novocain mit Dioxy-nor-Ephedrin ergab, daß das Suprarenin durch den neuen Körper vollwertig ersetzt werden kann und daß, wie bereits erwähnt, Nebenwirkungen vollkommen ausbleiben.

Der Ersatz des Suprarenin in der Lokalanästhesie durch das Corbasil bedeutet einen unleugbaren Fortschritt, der dem Arzt und dem Patienten in gleicher Weise zugute kommt. Der Patient wird von den mitunter eintretenden zwar relativ harm-losen aber doch recht beängstigenden Nebenerscheinungen des Suprarenin verschont; auch solche Suprarenin-empfindliche Personen, die bisher infolge ihrer eigenen unangenehmen Erfahrungen die Lokalanästhesie bei kleinen Eingriffen, besonders in der Zahnheilkunde, ablehnten, können jetzt des Vorteils der Schmerzlinderung teilhaftig werden. Dem Arzt, der von vornherein nicht ohne weiteres wissen kann, ob er einen Suprarenin-empfindlichen Patienten vor sich hat oder nicht, wird durch das Corbasil manche Aufregung erspart. Wenn auch die Allgemeinerscheinungen der Suprarenin-empfindlichen Personen meist rasch vorübergehen, so können sie das ärztliche Handeln doch sehr stören.

Mit dem Ersatz des Suprarenin durch das Corbasil werden Arzt und Patient vor derartigen aufregenden Zwischenfällen bewahrt.

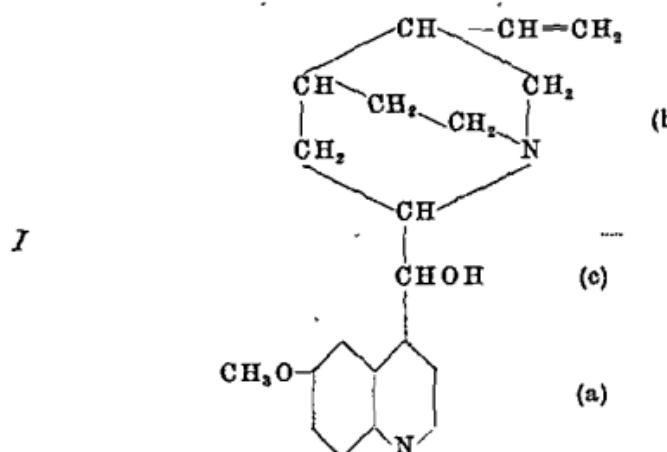
Antipyretica und Analgetica der Pyrazolonreihe

D R. M. BOCKMÜHL

Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie AG.,
Werk Hoechst

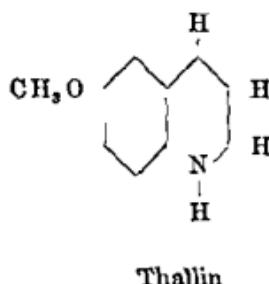
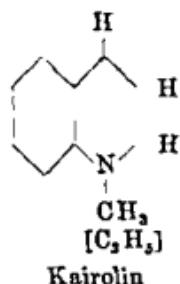
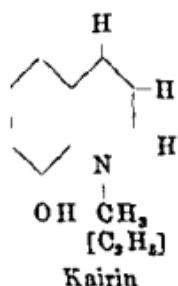
Die Auffindung der zur chemischen Gruppe der Pyrazolone gehörigen Antipyretica und Analgetica ist aufs engste verknüpft einerseits mit der in den 80er Jahren des vorigen Jahrhunderts vertretenen Auffassung vom Wesen des Fiebers und seiner Bekämpfung und andererseits mit den Versuchen zur Konstitutionsaufklärung des Chinins, des spezifischen Malariamittels und Antipyreticums. Nachdem Kolbe im Jahre 1874 aus dem Natriumsalz des im Steinkohlenteer enthaltenen Phenols und Kohlensäure einen Stoff darzustellen gelehrt hatte, welcher mit seiner Ausgangssubstanz die antiseptische und gärungshemmende Wirkung gemein hat, aber ungiftiger ist, hatte man diesen Stoff — die Salizylsäure — als innerliches Antisepticum bei Infektionskrankheiten geprüft und dabei seine antipyretische Wirkung festgestellt, welche in ihrem Ablauf der des Chinins glich, aber doch trotz der günstigen Beeinflussung des akuten Gelenkrheumatismus nicht befriedigen konnte. Die den beiden konstitutiv völlig verschiedenen Verbindungen Chinin und Salizylsäure eigene Wirkungsausübung, sowohl auf niedere Organismen, auf Fäulnis und Gärung, als auch auf die krankhaft gesteigerte Temperatur, schien durchaus zu der Vorstellung von der Fieberätiologie als durch Mikroorganismen bedingter Temperatursteigerung zu passen, deren Beseitigung man sich durch die Zerstörung der Mikrolebewesen durch die erwähnten Pharmaka erklärte. In dieser Zeit stand das Konstitutionsproblem des Chinins im Brennpunkt der chemischen Forschung. Eine große Zahl namhafter Chemiker bemühte sich um die Konstitutionsermittlung dieses komplizierten von Pelletier und Caventou entdeckten Alkaloids, das ja den

Therapeuten, wie bemerkt, nicht nur wegen der antipyretischen, sondern auch besonders wegen seiner Malariawirkung interessierte. Gerade diese Doppelstellung des Chinins unter den Arzneimitteln mußte zu der Frage führen, ob es möglich sei, durch organische Synthese zu Substanzen von gleichem oder ähnlichem Wirkungscharakter zu gelangen. Um aber an die Bearbeitung eines solchen Problems herangehen zu können, waren die Kenntnisse von dem Anteil der konstitutiven Gruppen und Teilstücke des Chininmoleküls an der Wirkungsresultante noch zu dürftig. Um hier grundlegende Einblicke zu gewinnen, mußte das Molekül zertrümmert, seine Spaltstücke mußten studiert werden. Aber viele Jahrzehnte intensiver Forschung waren erforderlich, um uns den konstitutionellen Habitus des Chinins völlig zu entschleiern und ihm einen Ausdruck zu geben, welchen wir heute dank der Arbeiten eines *König, v. Miller, Skraup, Rhode, Rabe* u. a. in der Formel I erblicken.



Wie man sieht, besteht das Chininmolekül aus zwei Teilen, dem Chinolinkern, welcher eine Methoxygruppe trägt (a), und einem wasserstofffreien Ringgebilde, dem sogenannten Loiponanteil (b); beide Teile sind durch ein Kohlenstoffatom eines Alkohols (c) verbunden. Zur Zeit, als die Geschichte der Synthese antipyretisch wirkender Mittel anhebt,

wußte man von dem heutigen chemischen Abbild des Chininmoleküls noch relativ wenig. Man hatte den einen Anteil, das Chinolin bzw. Methoxychinolin aus dem Gesamtverband herausbrechen und seine Eigenschaften studieren können, zumal *Skraup* das Chinolin und seine Derivate aus aromatischen Aminen aufzubauen lehrte. Die Feststellung, daß das Chinolin antipyretische, antizymotische und antiseptische Eigenschaften hat, war eine Erkenntnis von großer Tragweite, welche die Chemiker bei ihren synthetischen Arbeiten immer wieder auf diese Substanz als das erforderliche Grundskelett hinwies, wollte man zu einem Körper vom Chinincharakter gelangen. Wenn diese Vorstellung in der Folge auch manchen Wandel erfahren mußte, so besteht sie doch auch heute noch zu recht, soweit die typische Malariawirkung in Frage kommt. Für die Gewinnung von therapeutisch wertvollen Antipyreticis und Analgeticis erwies sie sich als irrig. Aber dieser Irrtum wurde das Fundament, auf dem die Arzneimittelsynthese



wertvolle Früchte ernten sollte. Das Chinolingeblide war als ein wichtiger Teil des Chininmoleküls erkannt. Lag aber dieses zwar antipyretisch und antiseptisch wirksame, aber therapeutisch unbrauchbare Gerüst in der intakten Chininmolekel als solches vor? Woher stammte der hohe Gehalt an Wasserstoff? Konnte dieser nicht im Chinolinteil verankert sein? Diese Fragen waren in der nächsten Zeit für die synthetischen Arbeiten richtungweisend: Man stellte Chinolinderivate mit erhöhtem Wasserstoffgehalt dar: *O. Fischer* schuf das Kairin, *Königs*

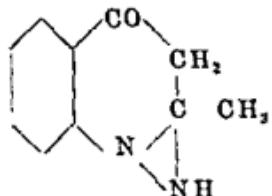
das Kairolin und später stellte *Skraup* im Hinblick auf die im Chinin enthaltene Methoxygruppe, welche dem wesentlich schwächer wirksamen Cinchonin fehlt, das Thallin dar.

Die pharmakologische und klinische Untersuchung der drei Verbindungen schien die Vermutung der Darsteller zu bestätigen. Die Substanzen wirken außerordentlich stark antipyretisch, aber bei näherer Betrachtung erwiesen sie sich keineswegs als harmlose Fiebermittel. Wegen ihrer gefährlichen Nebenwirkungen mußten sie bald wieder aus dem Arzneischatz verschwinden. Aber sie verschwanden nicht, ohne uns einige wichtige Einblicke in die Zusammenhänge von Konstitution und Wirkung verschafft zu haben. So verursachte die Einführung einer OH-Gruppe in das hydrierte Molekül eine raschere Wirkung (Kairin). Diese war aber flüchtiger, ein Nachteil, der durch Verschluß der OH-Gruppe mit einer Methyl- oder Äthylgruppe wieder ausgeglichen werden konnte. Auch die Methylierung am Stickstoff (Kairin, Kairolin) erwies sich als ein synthetischer Kunstgriff von großer Bedeutung in pharmakotherapeutischer Hinsicht. Er taucht, wie wir sehen werden, bei den Synthesen in der Pyrazolongruppe wieder auf, wo er zu Substanzen von bisher unbekanntem therapeutischem Wert führt.

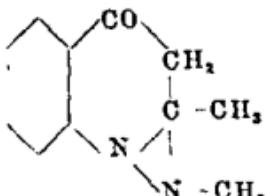
Inzwischen nahmen die Arbeiten über die Konstitutionsermittelung des Chinins ihren Fortgang. In diesem Ziel sah man eine der vornehmsten Aufgaben der Alkaloidchemie. Nur Schritt um Schritt ließ sich der Natur ihr Geheimnis abringen. Aber gerade die vielen ungelösten Rätsel auf dem Chiningebiet bildeten den Ansporn für die Phantasie der Chemiker, welche, den Blick auf das Chinin gerichtet, mit irriger Vorstellung von seinem inneren Bau zu neuen Synthesen schritten. In jener Zeit machte die organische Chemie in Wissenschaft und Technik ungeahnte Fortschritte. Man schwelgte in der Synthese. War ihr größter Nutznießer bisher die Chemie der künstlichen Farbstoffe, so fand die wachsende Erkenntnis von ihrer Bedeutung

für die Heilkunde in den neuesten Erfolgen einen guten Nährboden, zumal man den arzneilichen Wert des Äthers, Chloroforms, Chloralhydrats u. a. längst schätzen gelernt hatte.

Emil Fischer hatte den großen Anwendungsbereich der aromatischen Hydrazine, insbesondere für die Zuckerchemie gezeigt. Andererseits hatte man durch Selbstkondensation von Essigester den Acetessigester erhalten. Knorr, ein Schüler Emil Fischers, vereinigte beide Stoffe, Phenylhydrazin und Acetessigester und erhielt eine chemisch sehr merkwürdige Substanz. Er stellte sich den Reaktionsverlauf vor im Sinne der Bildung eines chinolinartigen Körpers, freilich von besonderem Format. Auch in ihm konnte der N-haltige, mit dem Benzolkern kondensierte Ring keinen aromatischen ungesättigten Charakter tragen, sondern erinnerte, abgesehen von dem dreigliederigen ringförmigen Anhang, an den hydrierten Zustand der Kairin- und Thallinmolekel. Wiederum herrschten hier die vermeintlichen konstitutiven Zusammenhänge mit dem Chininmolekül und so nannte Knorr sein Gebilde Methyloxychinizin.



Methyloxychinizin



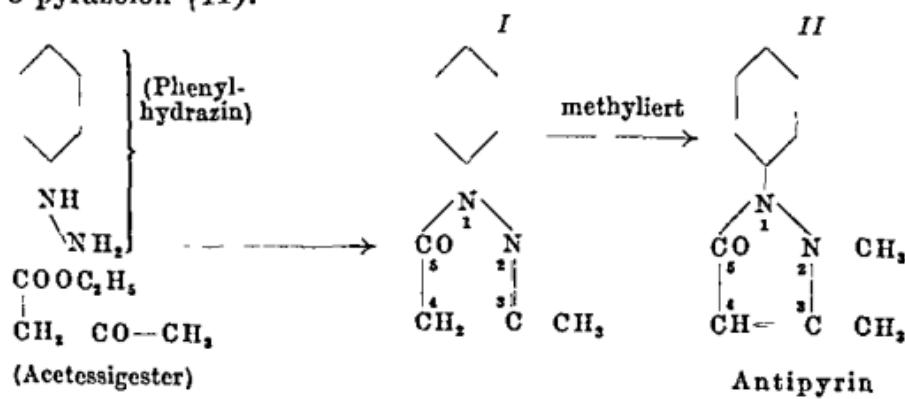
Dimethyloxychinizin

Die nun einsetzende pharmakologische Untersuchung des Knorrschen Produktes durch Filehne zeigte, daß der beschrittene Weg nicht aussichtslos war, eine antipyretische Wirkung des Kondensationsproduktes war unverkennbar. Man erinnerte sich an den in der Kairingruppe erzielten günstigen Effekt der Methylierung am Stickstoff. Auch das Methyloxychinizin trug ja ein N-Atom, dessen Wasserstoff durch eine Methylgruppe ersetzbar sein mußte. Der Methylierungsversuch glückte und führte zu einer Substanz von ganz anderen physikalischen Eigenschaften. Im Gegensatz zu dem methylfreien Produkt

war die Substanz eine ausgesprochene Base und in Wasser spielend löslich. Orientierende Studien zeigten ihre große chemische Reaktionsbereitschaft und versprachen für den Chemiker ein willkommenes Betätigungsgebiet. Zunächst interessierte eine ausführliche pharmakologische Analyse, welche ebenfalls *Filehne* in Angriff nahm. Da zeigte sich denn bald, daß man es mit einer Substanz von sehr wertvollen pharmakologischen Eigenschaften zu tun hatte: Sie wirkte stark antifebril und war dabei relativ wenig toxisch, so daß man zu ihrer klinischen Auswertung schreiten konnte. Diese bestätigte die pharmakologischen Erfahrungen: Gutes Antipyreticum ohne die gefährlichen toxischen Wirkungen der Vertreter der Kairin-Gruppe. Vielmehr hielten sich diese in mäßigen Grenzen und wurden gegenüber dem wohltuenden Einfluß auf die verschiedenen Formen des Fiebers unbedenklich mit in Kauf genommen. Jetzt übertrug *Knorr* den *Hoechster Farbwerken* die technische Ausführung seines Verfahrens und bald hieß das Dimethoxychinizin unter dem einfacheren Namen „Antipyrin“ seinen Einzug auf dem Arzneimittelmarkt, von dem es nicht mehr verschwinden sollte. In der nächsten Zeit setzte eine Flut von medizinischen Publikationen ein, die sich mit dem neuen Mittel befaßten. Man erkannte die antineuralgische und schmerzstillende Eigenschaft des Antipyrin bei Migräne, Dysmenorrhoe und bei Keuchhusten und verordnete es mit Erfolg bei vielen Infektionskrankheiten. Dabei wurde festgestellt, daß das Antipyrin zum kleinsten Teil mit dem Harn ausgeschieden wird, und zwar teilweise unverändert, teilweise an Schwefelsäure gebunden.

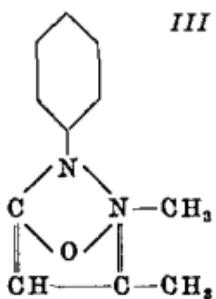
Es konnte nicht ausbleiben, daß die neuen sichtbar günstigen Resultate der Arzneimittelsynthese die damaligen Ansichten über den Zusammenhang von Konstitution und Wirkung einer Substanz stark beeinflußten. Man hatte gelernt, das Chinin durch ein künstliches fieberwidriges Mittel entbehrlich zu machen, ja es als Antinervinum zu übertreffen. Zwar

war dieser Gewinn mit der Erkenntnis erkauft, daß dem neuen Körper jede spezifische Wirkung auf die Malariaplasmoiden abgeht. Aber gerade diese Erkenntnis war lehrreich, denn sie zeigte, daß die künftige Auffindung neuer Antipyretica und Analgetica einerseits, von Malariamitteln andererseits in verschiedenen Forschungsrichtungen der Arzneimittel-synthese erwartet werden konnte. Zunächst gab es noch beim Antipyrin selbst manches zu klären. Sein Schöpfer hatte in mehrjähriger Tätigkeit diese Substanz mit ihrem sonderbaren konstitutiven Ausdruck weiter bearbeitet. Die mannigfachen Reaktionen, die das Antipyrin zeigte, waren mit der Formel eines Dimethyloxychinizin nicht mehr vereinbar und bald wurde das Forschungsergebnis bekannt: Die Kondensation von Phenylhydrazin mit Acetessigester muß anders verlaufen als ursprünglich angenommen war. Der Ester kann sich nicht an den Benzolkern des Phenylhydrazins angelagert haben, die Kondensation und Ringbildung muß anders zu deuten sein. Und Knorr fand einen neuen chemischen Ausdruck für sein Kondensationsprodukt und nannte es 1-Phenyl-3-dimethyl-5-pyrazolon (*I*), das daraus durch Methylierung entstandene Antipyrin 1-Phenyl-2,3-dimethyl-5-pyrazolon (*II*).



Die neue Antipyrin-Formel erklärt die meisten chemischen Äußerungen der Substanz. Als zyklisches Säureamid läßt sie es begreiflich erscheinen, daß sie im Gegensatz zu der

Ausgangssubstanz, dem Phenylhydrazin, welches ein starkes Blutgift ist, dessen Giftigkeit verloren hat. Allerdings reicht die Säureamidstruktur allein nicht aus, die Entgiftung solchen Grades zu erklären, da es andere Phenyl- und Phenylmethylhydrazinderivate von Säureamidstruktur gibt, welche noch stark toxisch sind. Es muß also der Ringstruktur, eben dem Pyrazolonkern als solchem ein wesentlicher Anteil an der Wirkungsresultante zugebilligt werden. Bei der Betrachtung des auch heute gültigen chemischen Symbols darf man allerdings nicht vergessen, daß es nur den konstitutionellen Ausdruck des Gewordenen, des synthetischen Produktes bietet, aber es läßt sich aus ihm nicht das Verhalten des Antipyrin gegenüber gewissen Addenden herauslesen. Dies ist nach *Knorrs* Ansicht nur möglich, wenn man sich den Pyrazolonring nicht als etwas Starres vorstellt, sondern in ihm fließende Valenzen annimmt, ähnlich den tautomeren Substanzen. So gelangte *Knorr* zu vier valenzchemischen Formeln, die dem Chemiker das mannigfache Verhalten des Antipyrin plausibel machen sollten, während *Michaelis* einen sinngemäßer Ausdruck in seiner sogenannten Betainformel (III) zu finden

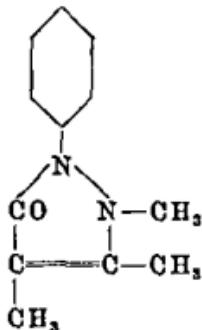


glaubte. Man kann sich heute kaum noch eine Vorstellung davon machen, welches Aufsehen damals die Entdeckung des Antipyrin sowohl im Lager der Chemiker als auch der Mediziner erregte. Auch boten die erfolgreichen neuen Resultate der Arzneimittelsynthese willkommenen Anlaß zur erneuten Diskussion über das Wesen der Antipyrese. Schon *Liebermeister* hatte den schädigenden Einfluß der im Fieber

erhöhten Temperatur erkannt und mit anderen gezeigt, daß die Wärmeabgabe während des Fiebers erhöht, daß aber die Wärmeproduktion noch mehr gesteigert ist. Er gelangte zu der Formulierung, daß die Wärmeregulation im Fieber auf einen höheren Grad „eingestellt“ sei. Beim Fiebernden sollte die Regulation ebenso auf 40° eingestellt sein wie beim Normalen auf 37°. *Filehne* suchte nun nachzuweisen, daß durch sie die „Regulierung niedriger eingestellt“ wird, daß also die Temperaturhöhe des Erregungsgleichgewichts im Zentralnervensystem erniedrigt wird. Es soll hier nicht weiter auf die Fiebertheorien, auf die Unterschiede des Chinins und der künstlichen Antipyretica bezüglich der Stoffwechselwirkung und andere Fragen eingegangen werden. Vielmehr soll nur gezeigt werden, daß die im Laboratorium erzeugten Fiebermittel die damalige Auffassung vom Wesen des Fiebers und seiner Bekämpfung zweifellos mit beeinflußt haben.

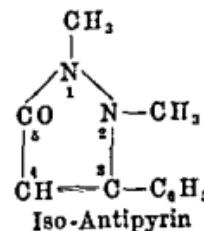
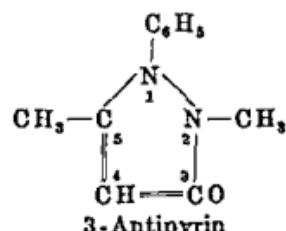
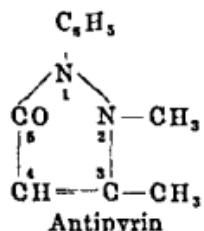
Kaum war der arzneiliche Wert des Antipyrin erkannt, so setzten auch Bemühungen ein mit dem Ziel, seine Wirkung zu verbessern oder zu modifizieren. Man stellte die Homologen des Antipyrin dar, das Homoantipyrin und Tolyppyrin, welche aber keine Vorteile gegenüber dem Antipyrin boten. Es entstanden so das salizylsäure, das acetyl-salizylsäure und das kampfersaure Antipyrin, das Migränin, aus Antipyrin, Koffein und Zitronensäure zusammengesetzt, die styptisch wirkende Eisenverbindung (Ferripyrin), das Chloralantipyrin, das Jodopyrin, um nur die wichtigsten zu nennen, Substanzen, von denen nur wenige auch heute noch hohen Arzneiwert haben, wie beispielsweise das Migränin. Man ersetzte das Sauerstoffatom im Antipyrin durch Schwefel (Thiopyrin) bzw. durch den Anilrest (Aniopyrin), ohne aber mit diesen beiden Mitteln den Standard zu erreichen, geschweige zu übertreffen. Weit über tausend Verbindungen der Pyrazolonreihe, welche eng mit dem Antipyrin

verknüpft waren, wurden dargestellt und untersucht. Nur auf einige wenige sei noch hingewiesen. Bei der Antipyrin-Darstellung entsteht als Nebenkörper ein Phenyltrimethylpyrazolon. Es ist das 4-Methylantipyrin. Eingehende Untersuchungen der



4-Methylantipyrin

damaligen *Hoechster Farbwerke* beschäftigten sich mit der Verwendungsmöglichkeit dieses Stoffes, welcher zwar etwas stärker antipyretisch wirkt als Antipyrin, dafür aber auch giftiger ist und daher keine Beachtung finden konnte. So versuchte man die Umwandlung dieses Nebenproduktes in bessere Verbindungen. Man erhielt dabei zwar chemisch sehr interessante neue Einblicke in die Pyrazolonchemie, aber in pharmakologischer Hinsicht wurden keine neuen Gesichtspunkte erzielt. Eine andere Möglichkeit eines Fortschrittes ergab sich aus folgender Überlegung. Ein Blick auf die Antipyrin-Formel zeigt uns, daß Formeln der gleichen Molekularstruktur denkbar sind, in denen die am Pyrazolonring haftenden Substituenten in anderer Weise verteilt sind. So sind z. B. die beiden Isomeren 3-Antipyrin und Isoantipyrin denkbar:

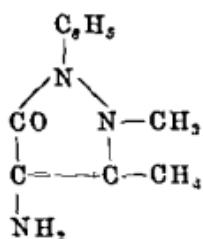


Beide Stoffe konnten synthetisiert werden. Das 3-Antipyrin erwies sich giftiger als Antipyrin, während das Iso-Antipyrin

fast die gleiche Gifigkeit hat wie Antipyrin, ohne aber Vorteile zu besitzen.

So schien es lange Zeit, als ob man in der Arzneimittelsynthese auf dem Gebiet der antipyretisch und analgetisch wirkenden Stoffe einen Kulminationspunkt erreicht hätte, der nicht mehr höher zu treiben sei und daß man die dem Antipyrin noch anhaftenden Nebenwirkungen als ein unvermeidliches Korrelat in Kauf nehmen müsse.

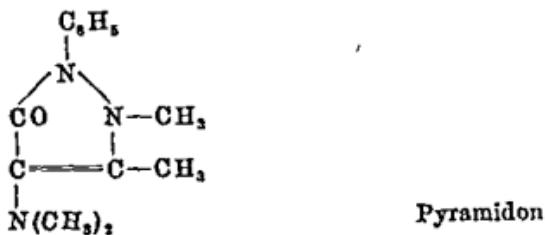
Seit der Entstehung des Antipyrin waren 10 Jahre verflossen. Man hatte längst die Beobachtung gemacht, daß der Körper mit salpetriger Säure eine schön grüne Nitroso-



4-Aminoantipyrin

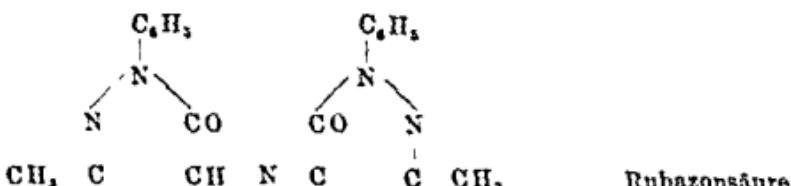
Verbindung gibt, welche zu einem farblosen Aminoderivat, dem 4-Aminoantipyrin, reduzierbar war. *Filehne*, der als erster das Kairin und Antipyrin in ihrer antipyretischen Wirkung erkannt und, wie wir sahen, wertvolle Beiträge zu dem Kapitel „Antipyrese“ beigesteuert hatte, nahm auch in der Folgezeit regen Anteil an allen weiteren synthetischen Arbeiten und blieb in enger Fühlung mit dem dieses Gebiet seit Jahren bearbeitenden Hoechster Werk. Nun hatte *Knorr* gezeigt, daß im Morphium, diesem souveränen Narkoticum, ein methyliertes tertiares N-Atom anzunehmen sei. *Filehne* glaubte dieser Gruppe eine große Bedeutung beizumessen zu sollen, enthielten ja doch auch Kairin und Antipyrin so ein methyliertes N-Atom. Die Einführung einer weiteren tertiaren N-Gruppe in das Antipyrin schien pharmakologisch aussichtsvoll. Und *Filehne* wendet sich an Hoechst mit der Bitte um Versuche, ein Antipyrin mit einem $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ -Radikal im aromatischen

Kern darzustellen. Hoechst konnte *Filehnes* Wunsch entsprechen, da es bereits seit einiger Zeit über einen ähnlichen Körper verfügte, welchen der Chemiker *Friedrich Stolz* synthetisiert, aber noch nicht zur pharmakologischen Untersuchung gegeben hatte. Zwar befindet sich das tertiäre N-Radikal in dieser Verbindung nicht im aromatischen Kern, sondern in der 4-Stellung des Pyrazolonringes, doch muß die isomere Substanz dem Pharmakologen begreiflicherweise das gleiche Interesse bieten wie die anfänglich gewünschte. *Filehne* untersuchte sie und erkannte bald die Überlegenheit des Neulings über Antipyrin. Zwar sind die Wirkungen analog, der Mechanismus der Entfieberung scheint in beiden Fällen der gleiche: Änderung der Regulation und Abkühlung mehr durch Steigerung der Wärmeabgabe als Verminderung der Wärmeproduktion, aber es bestehen wesentliche quantitative und qualitative Unterschiede. Der neue Stoff ist am Warmblüter einschließlich Menschen dreimal stärker wirksam als Antipyrin. Die Wirkung setzt langsamer ein und verklingt langsamer, ist milder und leichter abstufbar. Das sind Vorteile, die ungemein ins Gewicht fallen und denen imponieren müssen, welche noch den Wirkungscharakter der Kairine mit ihren heftigen Schweißausbrüchen bei der Entfieberung und den unheimlichen Schüttelfröstern in der Erinnerung haben. Der neue Pyrazolonabkömmling wird bald aus der Taufe gehoben und erhält den Namen „Pyramidon“.



Und nun begann eine umfangreiche Beschäftigung der Ärzte mit diesem Mittel. *Kobert* empfahl, gestützt auf fast 6000 Fälle, auf dem Tuberkulose-Kongreß in Berlin das

Pyramidon zur Bekämpfung des tuberkulösen Fiebers und betonte, daß dabei das Herz eher günstig als schädlich beeinflußt werde. Andere Ärzte, welche das Mittel bei Unterleibstyphus versuchten, hoben hervor, daß es nicht nur die Temperatur senke, sondern auch auf das Allgemeinbefinden des Patienten, auf sein Sensorium, auf Appetit und Schlaf so günstig wirke, daß das Bild des Typhuskranken ein ganz anderes werde. Immer mehr setzte sich das neue Mittel bei Ärzten und Patienten in Gunst. Sein wohltuender Einfluß auf alle akuten Fieberzustände, seine lindernde Wirkung als Antineuralgicum und Analgeticum, seine Verwendung in Chirurgie, Gynäkologie und Zahnheilkunde sind jedem Mediziner so geläufig, daß es sich erübrigt, näher darauf einzugehen. Vielmehr sollen hier nur die geschichtlichen Umrisse gezeigt werden. In der ersten Zeit der Pyramidon-Arbeiten hörte man einen Schreckschuß. Nach Verabfolgung des Pyramidon war im Harn der Patienten ein roter Farbstoff aufgetreten, vermutlich Hämatoporphyrin, also Blutgiftwirkung! Es stellte sich aber bald heraus, daß dieser Farbstoff nichts anderes als die bereits von *Jaffé* festgestellte Substanz ist, welche als identisch mit der von *Knorr* synthetisierten Rubazonsäure befunden und zusammen mit Antipyrylharnstoff als Umwandlungsprodukte des Pyramidon im Organismus erkannt wurde.



Von den bald dargestellten Salzen des Pyramidon interessieren besonders das salizylsäure und kampfersäure Salz, letzteres besonders wertvoll als gleichzeitig antipyretisch und antihidrotisch wirkendes Mittel bei den Tuberkulosen.

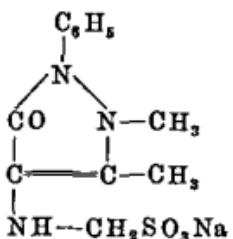
Unmittelbar nach der Einführung des Präparates vollzog sich derselbe Prozeß, wie man ihm nach der Erfindung des

Antipyrin erlebt hatte: Man versuchte die durch die neuen Tatsachen gewonnenen Vorstellungen von den Zusammenhängen zwischen Konstitution und Wirkung durch Schaffung neuer, dem Pyramidon-Typ entsprechender Substanzen auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Zahlreiche Verbindungen entstanden, aber die meisten versagten, nur wenige waren gute Vertreter dieser Klasse, übertrffen wurde das Pyramidon nicht. Ferner: War die Einführung einer tertiären Aminogruppe in das Antipyrin-Molekül ein so wichtiger Schritt in pharmakodynamischer Beziehung, so konnte man ja versuchen, diesen Prozeß zu wiederholen. Und so entstand ein Pyramidon, welches im aromatischen Kern nochmals die $N(CH_3)_2$ -Gruppe trug, jedoch führte diese Maßnahme zu einer außerordentlichen Verschlechterung der Wirkung. Auch wurden ebenso wie beim Antipyrin die Isomeren des Pyramidon, das 3-Pyramidon und die Iso-Verbindung, sowie das von Filehne ursprünglich gewünschte Isomere mit der $N(CH_3)_2$ -Gruppe im Benzolkern dargestellt, ohne aber besonderes Interesse finden zu können. Alle diese Bestrebungen mußten zu der Erkenntnis führen, daß uns die erworbenen Resultate zwar manch wichtigen Aufschluß über die Abhängigkeit der physiologischen Wirkung einer Substanz von ihrem chemischen Bau vermittelten, daß es aber nicht möglich ist, die Wirkung eines nach einem chemischen Plan aufzubauenden Stoffes in quantitativer und qualitativer Beziehung vorauszusagen. Glück und Zufall spielen dabei keine geringe Rolle, wie die Geschichte der Pyrazolonabkömmlinge zeigt. So durfte man sich mit der Feststellung begnügen, in dem Pyramidon ein ideales Fiebermittel zu besitzen, welches die frühere souveräne Stellung des Chinin nicht nur erschüttert, sondern es völlig entbehrlieh gemacht hatte. Doch bedeutete das Erreichte keinen Stillstand.

Galten die bisherigen synthetischen Arbeiten dem Streben nach Wirkungsintensität — natürlich unter möglichster Ausschaltung von Nebenwirkungen, so setzte nun eine Forschungsrichtung ein mit der Zielweisung, die Wirkungsrichtung

auszubauen, die Wirkung qualitativ zu differenzieren. War es möglich, die durch Pyramidon erzielbare Schmerzlinderung zu verstärken? Die Beantwortung dieser Frage bedeutete insofern eine große Schwierigkeit, als man über keine einwandfreie Methode verfügte, Schmerzaffektionen und ihre Beeinflussung durch Pharmaka am Tier zu prüfen. Dieser Mißstand besteht auch heute noch. Erst die neuesten Arbeiten im In- und Ausland gelten dem Bestreben, diese große Lücke in der pharmakologischen Methodik auszufüllen. Die Frage, ob eine Substanz schmerzlindernd wirkt, kann vorläufig nur am Krankenbett beantwortet werden und so ist man bei der Darstellung von Analgetics völlig auf Hypothesen und das Experiment angewiesen. War die Vorstellung richtig, wonach die Antipyretica als Fiebermarkotica anzusehen sind, so konnte man ja in der Absicht, Substanzen mit Betonung der analgetischen Wirkungskomponente zu gewinnen, versuchen, zwei Stoffe von bestimmtem Wirkungscharakter chemisch zu verbinden: den antifebril wirkenden Antipyrin-Kern mit einer in den hypnotisch und sedativ wirkenden Mitteln als wesentlich erkannten sogenannten hypnophoren Gruppe. Dies war experimentell möglich, zumal nicht nur das im Pyramidon vorliegende methylierte Aminoantipyrin, sondern auch dieses selbst eine starke Wirkung auf die wärmeregulierenden Zentren äußert. So konnte man z. B. die hypnophoren Gruppen an die NH_2 -Gruppe des Aminoantipyrin „anhängen“. Nach diesem Prinzip wurde vom Aminoantipyrin ausgehend das N-Valeryl-, N-Bromvaleryl- und das N-Diäthylbromacetylalamidoantipyrin dargestellt. Doch erwies sich diese Hypothese als irrig, denn das Experiment zeigte, daß eine Verbindung, welche als eine chemische Vereinigung von zwei nach verschiedenen pharmakologischen Richtungen wirksamen Substanzen aufzufassen ist, nicht die Summe beider Wirkungsprinzipien bzw. deren Resultante zeigt, sondern schwächer wirksam und häufig wertlos ist.

Dagegen konnte das in dieser Reihe so häufig geübte Kondensationsprinzip in anderer Hinsicht zu einem vollen Erfolge führen. Ausgehend von der Feststellung, daß das Pyramidon relativ schwer löslich ist und nur peroral verabfolgt wird, wurde versucht, quasi ein lösliches, spritzbares Pyramidon zu gewinnen. Aber alle Versuche, durch Einführung einer löslichmachenden Gruppe in die Molekel das Ziel zu erreichen, schlugen fehl. Führte man z. B. eine Essigsäure- oder Sulfosäuregruppe ein, so trat der antipyretische und analgetische Effekt zurück. Doch fand man eine Ausnahme: Durch Kondensation von Amidoantipyrin mit Formaldehydbisulfit entsteht eine in Wasser leicht lösliche Substanz der Konstitution



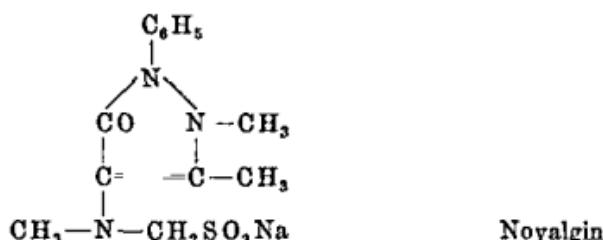
Melubrin

Ihre pharmakologische Untersuchung durch *Straub* und *Biberfeld* zeigte, daß sie das Pyramidon zwar nicht an Intensität der antipyretischen Wirkung erreicht. Die milde Entfieberung und andere günstige Eigenschaften, so besonders die außerordentlich geringe Giftigkeit, ließen es aber doch ratsam erscheinen, das weitere Urteil darüber dem Kliniker zu überlassen. *Löning* prüfte darauf das Präparat und stellte seine spezifische Wirkung auf den akuten Gelenkrheumatismus fest. Dabei konnte er das Mittel dank seiner Ungiftigkeit in hohen Dosen verabfolgen und von allen Antipyretics als das einzige erklären, welches schon in Dosen von 0,5 g wirkt und noch in Dosen von 8—10 g ohne Nebenwirkungen vertragen wird. Das Präparat erhielt den Namen „Melubrin“ und führte sich bald sehr vorteilhaft ein, so

auch bei Neuralgien, Urtikaria, Erysipel, bei Tuberkulose und anderen Infektionskrankheiten. Auch die Möglichkeit, das Melubrin parenteral in Form einer 50%igen Lösung applizieren zu können, ist ein Vorteil, von dem gern Gebrauch gemacht wird. Dank der Ungiftigkeit des Melubrin ist eine Kontraindikation nicht bekannt.

Natürlich versuchte das Hoechster Werk, welches seit der Darstellung des Antipyrin die wissenschaftliche Führung auf dem Pyrazolongebiet hat, den mit dem Melubrin erzielten Fortschritt weiter auszubauen, zumal man ja den Beweis geliefert hatte, daß es berechtigt ist, bei der Gewinnung neuer Stoffe statt der früher bevorzugten Wirkungsintensität nunmehr die Wirkungsqualität anzustreben. Man stellte die höheren Homologen dar, ein synthetisches Prinzip, welches die Vorprodukte des Kairin, Antipyrin und Pyramidon erst in pharmakotherapeutisch wertvolle Stoffe übergeführt hatte. Für eine derartige Variation kamen in dem Melubrinnukleus hauptsächlich vier Stellungen in Betracht: Der Benzolkern, die in 2- und 4-Stellung befindlichen Stickstoffatomie und das Methylenradikal, welches die Sulfogruppe trägt. Die beiden ersten Möglichkeiten, welche man s. Zt. beim Antipyrin ohne besonderen Erfolg realisiert hatte, brachten auch in der Melubrinreihe nichts Neues. Die Einführung von Alkylen in die Methylengruppe führte ebensowenig zu therapeutisch wertvolleren Derivaten. So blieb die Alkylierung am 4-Stickstoff. Viele Jahre verstrichen seit der Darstellung des Melubrin, bevor dieses Prinzip nach Überwindung mancher experimenteller Schwierigkeiten Gestalt erhielt. Aus einer Reihe verschiedener pharmakologisch untersuchter Vertreter dieses Typs wurde das Methylderivat für die klinische Prüfung ausgewählt. Schon die ersten Berichte von *Auer, Löning u. a.* bewiesen, daß der neue Abkömmling der Melubrin-Reihe, das N-Methylmelubrin, ein hochaktives Antirheumaticum, Antipyreticum und Analgeticum darstellt, welches das Melubrin

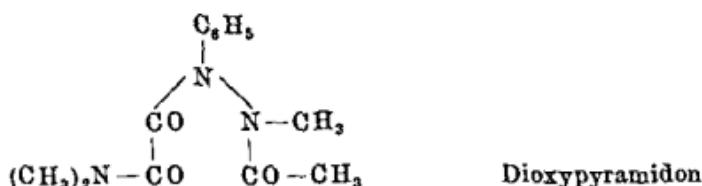
bei gleicher Wirkungsqualität um das Doppelte an Intensität übertrifft. Dabei hat es den Vorteil, subkutan und intramuskulär applizierbar zu sein, ohne Gewebsreizung zu ver-



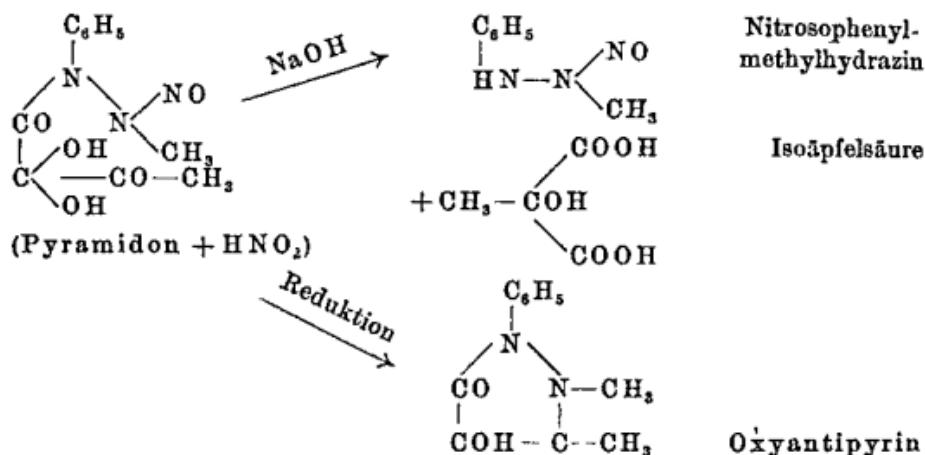
ursachen. Die überlegenen qualitativen Eigenschaften des Produktes, welches unter dem Namen „Novalgin“ in den Arzneischatz eingeführt wurde, traten in der Folge immer mehr in Erscheinung. Nicht nur, daß das Novalgin als ein prompt wirkendes Fiebermittel bei Pneumonien, Grippe, Typhus, überhaupt bei jeglichem infektiösem Fieber erkannt wurde, nicht nur, daß das Mittel keine schädigende Wirkung auf Herz, Kreislauf und Niere zeigt und selbst bei schweren Herzkomplikationen und akuten und chronischen Nephritiden unbedenklich verordnet werden kann, die erwähnten in der Arzneimittelsynthese immer mehr in den Vordergrund tretenen Bestrebungen, die Wirkung der Antipyretica zu differenzieren, erhielten im Novalgin ein reales Gepräge, denn immer mehr lernte man am Krankenbett seine schmerzstillenden und antiphlogistischen Eigenschaften kennen, so bei Nieren- und Gallensteinkoliken, bei postoperativen Schmerzen, Neuralgien, Arthritiden und vielen anderen schmerzhaften Affektionen. Überall ist der Fortschritt unverkennbar, ist es doch jetzt möglich, durch Anwendung des Novalgin in vielen Fällen sogar das Morphinum, das Analgeticum par excellence, entbehrlich zu machen. Selbst für die Morphin- und Opium-entziehungskur ist das Novalgin vorgeschlagen worden, doch sind darüber die Akten noch nicht geschlossen.

Im Jahre 1930 wurde von französischer Seite über ein Oxydationsprodukt des Pyramidon berichtet, welches als

„Dioxypyramidon“ bezeichnet wurde und durch Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf Pyramidon entsteht. Das Präparat soll neben den günstigen Eigenschaften des Pyramidon eine hypnotische Wirkung besitzen. Abgesehen davon, daß die obige Bezeichnung irreführend ist, da der Körper den Pyrazolonring überhaupt nicht enthält, vielmehr ein Phenylhydrazinabkömmling ist, konnten die angeblich besonderen Eigenschaften der Substanz nicht bestätigt werden. Interessant ist an der Reaktion lediglich, daß durch das



Superoxyd der Pyrazolonring geöffnet wird. Darauf hat bereits der Verfasser dieses Aufsatzes im Jahre 1924 in einem Vortrag in Frankfurt a. M. hingewiesen. Dort konnte gezeigt werden, daß gewisse Oxydationsmittel wie salpetrige Säure und Wasserstoffsuperoxyd den Pyrazolonring aufzusprengen vermögen, und zwar erfolgt die Reaktion bei allen Antipyrin-Abkömmlingen, welche in 4-Stellung einen substituierten Aminorest tragen. Z. B. hat das mit salpetriger Säure entstandene Produkt die unten aufgeführte Formel. Diese Reaktion ist auch wegen der Umwandlungsprodukte interessant: Mit Natronlauge wird auch die zweite Valenz, mit welcher der N-freie Anteil des ursprünglichen Pyrazolonkernes noch am Hydrazinrest haftet, gelöst: Es entsteht Nitrosophenylmethylhydrazin, während die abgespaltene Ketosäure in Isoäpfelsäure umgelagert wird. Behandelt man dagegen obiges Reaktionsprodukt aus Pyramidon und HNO_2 mit Reduktionsmitteln, so schließt sich wieder der Ring, und es entsteht das bekannte bereits von *Pschorr* auf andere Weise erhaltene antipyretisch wirksame 4-Oxyantipyrin:



Wir sehen also hier durch einen eigentümlichen Prozeß von Ringöffnung und Ringschluß einen Übergang von Pyramidon in Oxyantipyrin.

Wir haben oben die irrite Auffassung gekennzeichnet, zwei Arzneistoffe verschiedener pharmakologischer Gruppen durch einen Kondensationsprozeß in einen neuen Körper umzuwandeln in der Hoffnung, etwa die Wirkungsresultate der den beiden Teilkörpern zukommenden Einzelwirkungen zu erzielen. In diesem Zusammenhang sei zum Schluß noch auf eine andere Richtung der Darstellung analgetisch wirkender Mittel hingewiesen, welche in der molekularen Vereinigung von Pyramidon mit einem Vertreter der hypnotisch und sedativ wirkenden Stoffe ihren Ausdruck findet, ebenfalls in dem Bestreben, eine Wirkungssummation oder eine neue Wirkungsresultante zu erreichen. Dieses Prinzip hat mit dem vorigen nichts zu tun und ist insofern berechtigt, als die Bindung der Teilkomponenten nur eine durch Nebenvalenzen bedingte und daher lockere ist, und infolgedessen der Eigenwert jedes Reaktionspartners im Organismus erhalten bleibt, während unerwünschte Nebenwirkungen ausgeschaltet werden. Der erste Körper dieses Typs ist das aus Pyramidon und Butylchloralhydrat bestehende „Trigemin“, welches seit vielen Jahren als Analgeticum und Sedativum geschätzt ist.

und lange Zeit der einzige Repräsentant dieser Körperklasse blieb. Erst viel später kombinierte man das Pyramidon mit den Vertretern der Veronal-Gruppe. In allen Fällen strebte man eine Vertiefung der dem Pyramidon eigenen analgetischen Wirkungskomponente an, während die hypnotische Wirkung des anderen Partners mehr oder weniger zurückgedrängt wird. Nach diesem Modell wurden viele Barbitursäuren für die Gewinnung der Doppelverbindungen der gekennzeichneten Art herangezogen. Erst mit dem „Compral“ wurde wieder ein prinzipiell anderer Reaktionspartner gewählt. In ihm ist die stärker hypnotisch wirkende Barbitursäure durch das milde wirkende Urethan des Trichloräthylalkohols (Voluntal) ersetzt. Man erhielt dadurch ein Analgeticum von sehr schätzenswerten Eigenschaften. Ein Seitenweg dieser Richtung wurde mit der Darstellung des „Gardan“ eingeschlagen. In ihm liegt ebenfalls eine Kombination des Pyramidon vor. Doch wurde als zweiter Partner kein Hypnoticum, sondern das stark analgetisch wirkende Novalgin gewählt. Auch im Gardan ist die Wirksamkeit der Teilstoffe vertieft; es ist ein ausgezeichnetes Analgeticum und Antiphlogisticum.

Überblicken wir die oben skizzierten geschichtlichen Umrisse der Arzneimittelsynthese auf dem Gebiete der Antipyretica und Analgetica, so erkennen wir als die Haupttriebfeder die irre Vorstellung von der Konstitution des Chinins. Sie wies der synthetischen Chemie die erste Arbeitsrichtung. Erst die durch sie bedingte stetig wachsende Erkenntnis von der Zusammengehörigkeit vom konstitutiven Ausdruck einer Verbindung und ihrer Wirkung verlieh dem verschwommenen Ziel eine klarere Prägung und zeigte den Weg zu seiner Erreichung. Wurde auch der ursprüngliche Wunsch, ein Malariamittel zu schaffen, nicht erfüllt, — eine Aufgabe, welche erst später durch andere Forschungswegs gelöst werden sollte — so verdanken wir diesem Irrtum und seiner Klärung eine Fülle wertvoller Erkenntnisse und Arzneistoffe von dauerndem Wert.

Aus der Entwicklung der Schlafmittelsynthese

PRIV.-DOZ. DR. MED. H. WEESE

Aus dem Pharmakologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG., Werk Elberfeld

Obwohl keine Arzneimittelklasse eine so große Anzahl synthetischer Präparate wie die der Schlafmittel aufweist, hat doch jedes dieser Produkte seinen mehr oder minder großen Kreis von Anhängern gefunden. Der Grund für dieses Anwachsen der Zahl der Hypnotica liegt in den gesteigerten Anforderungen, die der Therapeut heute an die Wirksamkeit der Produkte stellen muß und in der Tatsache, daß sich die Zahl der Hypnotica über ihren engeren Bereich hinaus nach dreierlei Richtungen ausgedehnt hat: In der Richtung der Sedativa, der Narkotica und der Antiepileptica.

Obwohl die Wirkungsform dieser nunmehr so großen Arzneimittelklasse sehr mannigfaltig ist, liegt doch allen diesen Mitteln derselbe Wirkungsmechanismus zugrunde. Keine dieser Substanzen geht an den Orten ihrer Wirkung mit irgendwelchen Stoffen der Zelle eine chemische Reaktion ein, da sie alle chemisch relativ indifferent sind. Nach der noch immer zu Recht bestehenden Theorie von *Overton* und *Meyer* (1899) wirken alle diese Verbindungen nur auf Grund zweier physikalischer Eigenschaften, die in dem Teilungskoeffizienten ausgedrückt werden. Dieser Koeffizient gibt das Verhältnis ihrer Lipoidlöslichkeit zu ihrer Wasserlöslichkeit an:

$$K = \frac{\text{Lipoidlöslichkeit}}{\text{Wasserlöslichkeit}}$$

Er bestimmt also die Verteilung des Mittels zwischen dem Blut (Wasser) und den besonders lipoidreichen Nervenzellen. Da nun der Gehalt der Ganglienzellen in den einzelnen Hirnpartien nicht nur in der Gesamtmenge, sondern auch im relativen Gehalt an den einzelnen Lipoidarten, besonders auch

an den wasserlöslichen wechselt, so ist es selbstverständlich, daß sich jedes Mittel entsprechend dem ihm eigenen Teilungskoeffizienten auf die einzelnen Hirnpartien verteilt. Außerdem wechselt aber auch der chemische bzw. physiko-chemische Aufbau der einzelnen Nervenzellengruppen nicht nur an und für sich von Mensch zu Mensch, sondern es treten auch beim Individuum Schwankungen mit dem wechselnden Funktionszustand (Tonus) der Nervenzellen auf. Dies erklärt die große Mannigfaltigkeit in der Wirksamkeit der eben besprochenen Mittel, wie auch die wechselnde Reaktion verschiedener Patienten auf ein und dasselbe Mittel. Hat sich nun irgend eine Nervenzelle entsprechend dem Teilungskoeffizienten mit einem Hypnoticum angereichert, so spielt sich stets derselbe Prozeß ab: Das Hypnoticum speichert sich in den Grenzflächen und verringert deren Permeabilität. Damit bremst es den Stoffwechsel und sekundär die spezifische Funktion. Es tritt jener reversible Zustand verringelter Funktion ein, den wir Schlaf bzw. Narkose nennen.

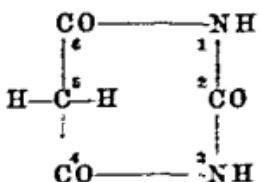
Der Teilungskoeffizient ist jedoch nur maßgebend für die Qualität des therapeutischen Effektes. Die Quantität der Wirkung wird, abgesehen von der willkürlich gewählten Dosis, vorwiegend von der Geschwindigkeit der Abbauvorgänge bzw. der Ausscheidung der Substanz bestimmt. Da wir in der Lage sind, die Anflutung des Wirkungseintrittes durch Art und Form der Applikation innerhalb gewisser Grenzen willkürlich zu bestimmen, entwickelt sich als zweites Hauptproblem der die Abreibung der Wirkung bestimmende Abbau des Präparates. Die den zeitlichen, also vorwiegend praktischen Gesichtspunkten entspringende Gegenüberstellung von Einschlafmitteln und Dauerschlafmitteln sollte folglich als Stoffwechselproblem betrachtet werden.

Wir stellen daher immer noch zu recht die Einschlafmittel, die von einer ganz bestimmten Patientengruppe gefordert werden, den Dauerschlafmitteln (Schlafdauer über

die normale Schlafzeit hinaus) gegenüber. Eine Mittelstellung mögen die sogen. Durchschlafmittel (Schlafdauer entsprechend der normalen Schlafzeit von 6—8 Stunden) einnehmen. Eine Differenzierung von leichten und schweren Schlafmitteln muß vom pharmakologischen Standpunkt aus abgelehnt werden, da die Intensität der Wirkung am Menschen eine Funktion der willkürlich gewählten Dosierung ist.

Auch bei der Synthese der Schlafmittel hat sich gezeigt, welch große Unterschiede für die Therapie oft kleine Änderungen an einem Molekül zur Folge haben. Es soll an Hand einiger prägnanter Beispiele von Barbitursäurederivaten die Entwicklung einer derartigen Arzneimittelgruppe kurz skizziert werden.

Das Ausgangsprodukt von vielen Hunderten von Derivaten, die Barbitursäure (Malonylharnstoff)



hat selbst keinerlei hypnotische Wirkung. Auch durch Substituierung eines Wasserstoffatoms am C₍₅₎-Atom entsteht noch keine hypnotisch wirksame Substanz. Erst wenn die beiden in der 5-Stellung befindlichen H-Atome durch zwei Alkylreste (mindestens Äthylgruppen) substituiert werden, entstehen Substanzen mit hypnotischen Eigenschaften.

Die erste derartige Verbindung war die Diäthylbarbitursäure, das Veronal (Fischer und Mehring 1903). Das Veronal ist der charakteristische Vertreter der Dauerschlafmittel. Da es sehr schwer in Wasser löslich ist, wird es nur langsam vom Magendarmkanal aus resorbiert. Die übliche Schlafdosis von 0,5 g wirkt daher bei oraler Verabfolgung erst nach 1—2 Stunden. Der Schlaf hält lange an, einsteils weil

noch stundenlang Veronal nachresorbiert wird, andernteils weil das Molekül im Stoffwechsel sehr widerstandsfähig ist. Nur ein kleiner Teil wird intermediär abgebaut. 70—90 % (Fischer und Hoppe, Halberkann und Reiche) der therapeutischen Dosis werden im Verlauf von Tagen mit dem Harn unverändert ausgeschieden. Ein intermediär auftretendes Abbauprodukt des Veronal ist nicht bekannt. Obwohl das Veronal wie alle Barbitursäuren zu den Hirnstammmitteln zu rechnen ist, beeinflußt es die lebenswichtigen Zentren der Medulla oblongata, das Atem- und Vasomotorenzentrum, relativ wenig. Es zeigt daher auch klinisch verhältnismäßig wenig ernstere Nebenwirkungen. Charakteristisch für das Veronal ist, daß sich seine Wirkung über sehr lange Zeit hinzieht, so daß damit bei täglich sich wiederholender Verabfolgung die Möglichkeit der Kumulation gegeben ist. Bei richtiger Indikation, d. h. bei Patienten, bei denen nach langem Schlaf eine sedative Nachwirkung erwünscht ist, wird diese Nachwirkung jedoch zum Erfordernis.

Charakteristisch für das Veronal ist das mit zwei gleichartigen Alkylresten substituierte C₆-Atom.

Mit der Phenyläthylbarbitursäure, dem Luminal (Impens 1912) wurde eine Substanz entwickelt mit zwei verschiedenartigen Substituenten, einem Alkyl- und einem Arylrest. Auch das Luminal gehört zu den Dauerschlafmitteln. Am gesunden Menschen und Tier unterscheidet es sich in seiner hypnotischen Wirkung qualitativ nicht wesentlich von Veronal. Anders jedoch am pathologisch veränderten Zentralnervensystem. Hauptmann (1912) hat entdeckt, daß das Luminal eine antiepileptische Wirkung besitzt. Vom Luminal wird im Organismus ein erheblich größerer Teil abgebaut, da Halberkann und Reiche nur 11—25 % unverändertes Luminal im Harn finden konnten. Ein Zwischenprodukt des Luminalabbaues ist bisher nicht bekannt.

Aufbauend auf den Erfahrungen mit dem Luminal als Schlafmittel wurde ebenfalls in unseren Elberfelder Laboratorien

die totale und partielle Hydrierung des Phenylringes durchgeführt. Es entstand die Zyklohexenyläthylbarbitursäure, das Phanodorm (*Impens* 1925). Das Phanodorm ist ein reines Hypnoticum ohne antiepileptische Wirkung. Es zeigt ein pharmakologisch neuartiges Verhalten. Schon eine Viertelstunde nach Verabfolgung einer hypnotischen Dosis (per os) schlafen die Tiere (Hunde, Katzen) fest. Sie erwachen nach 6—8 Stunden und sind am anderen Morgen wieder völlig munter. Auch von massiven narkotisierenden Dosen erholen sich die Tiere relativ rasch und restlos. Schon diese Tierexperimente ließen im Phanodorm eine Substanz vermuten, die pharmakologisch zwischen Einschlaf- und Dauerschlafmitteln steht: das Durchschlafmittel. Eine große klinische Erfahrung bestätigte dies. Das Phanodorm erzeugt am Menschen nach $\frac{1}{2}$ —1 Stunde einen Schlaf von 6—8 Stunden, aus dem der Patient am nächsten Morgen erfrischt erwacht. Vergleichsversuche zwischen der freien Zyklohexenyläthylbarbitursäure und ihrem Kalziumsalz zeigten, daß durch die Salzbildung der Wirkungseintritt des Phanodorm um etwa $\frac{1}{3}$ beschleunigt wird.

Eingehende Studien über die Ausscheidung des Phanodorm haben *Freiurst* und *Halberkann* durchgeführt. Sie fanden, daß auch nach großen Phanodorm-Dosen in kurzer Zeit insgesamt nur 2,5—6,3 % der unveränderten Substanz im Harn ausgeschieden werden. Außerdem konnte *Halberkann* im Harn noch 12—19 % eines Umwandlungsproduktes des Phanodorm nachweisen. Dieses Umwandlungsprodukt (Aethylcyclohexenonylbarbitursäure?) wirkt weder narkotisch noch zeigt es, selbst in großen Dosen, toxische Eigenschaften. Es ist zu hoffen, daß durch Ermittlung der Konstitution dieses Umwandlungsproduktes ein Einblick in den physiologischen Abbau dieses und ähnlicher Barbitursäurederivate gewonnen werden kann. Etwa 80% des Phanodorm müssen im Stoffwechsel zu Produkten, die bisher nicht gefunden werden konnten,

abgebaut werden. Dieser rasche und intensive Abbau des Phanodorm erklärt zwangsläufig die oben beschriebene kurze Wirksamkeit, das Fehlen von Nachwirkungen und seine auffallend geringe Giftigkeit.

Durch weitere Substitution am C₅) wurden noch Hunderte von Hypnotica gefunden, von denen sich eine ganze Anzahl in der Therapie bewährt hat. Dox (1923) suchte die Erfahrungen mit der Substitution am C₅) in der folgenden Regel zusammenzufassen: Am C₅) müssen beide Valenzen alkyliert sein. Die beiden Alkyle müssen zusammen mindestens 4, höchstens 8 C-Atome enthalten. Mindestens ein Alkyl muß in offener Kette sein. Ein Anwachsen des Molekulargewichtes über 250 ergibt einen Verlust an hypnotischer Wirkung.

Unter der Unzahl dieser Substitutionsprodukte fand sich kein einziges Antiepilepticum mehr. Erst als wir, ausgehend vom Luminal, dessen N₁-alkylierten, gelangten wir zu einem Antiepilepticum, das in vielen Fällen Vorzüge vor dem Luminal aufweist: Die C-C-Phenyläthyl-N-methylbarbitursäure, nunmehr Prominal (Weese 1931) genannt, wirkt im Katzenversuch rein narkotisch wie das Luminal. Die Wirkungsdauer ist aber verdoppelt. Trotzdem ist seine Giftigkeit gegenüber dem Luminal um $\frac{1}{3}$ verringert. Da sich das Prominal am gesunden Tier nur in der Dauer der Wirkung vom Luminal unterscheidet, suchten wir im Tierexperiment einen der epileptischen Krampfbereitschaft äquivalenten Zustand zu erzielen. Wohl ließen sich epileptiforme Krämpfe durch chemische und physikalische Eingriffe erzeugen. Diese Krämpfe ließen sich auch durch Prominal und Luminal, aber ebenso durch Veronal beseitigen. Da auch das Veronal wirksam war, war der therapeutische Effekt ein rein narkotischer, also unspezifischer. Die Prüfung auf spezifisch antiepileptische Wirksamkeit kann auch heute noch nur vom Kliniker am Epileptiker selbst durchgeführt werden. Diese klinische Prüfung bestätigte unsere Annahme, daß das Prominal ein

Antiepilepticum ist, nicht nur, sondern sie ergab zudem, daß auf Grund der besonderen Verteilung des Prominal im Zentralnervensystem des Epileptikers die Spanne zwischen hypnotischer und antiepileptischer Wirksamkeit eine breitere als beim Luminal ist. Das Prominal hat also eine größere Spezifität. Die bei den unter Luminal stehenden Epileptikern häufig unerwünschte Dösigkeit und Schläfrigkeit fällt unter Prominal weg.

Unsere systematisch ausgearbeiteten Untersuchungen über N-alkylierte Barbitursäuren führten des weiteren in eine Reihe mehr oder weniger geeigneter Hypnotica. Unter ihnen fiel eine einzige Substanz auf, die geeignet schien, eine wesentliche Lücke im Arzneischatz auszufüllen. Es ist dies die C-C-zyklohexenyl-methyl-N-methyl-barbitursäure, das Evipan (Weese 1932). Im Experiment schließen die Tiere doppelt so rasch ein wie nach Phanodorm, Kanarienvögel zum Beispiel nach 2—3 Minuten. Wurde das leicht lipoidlösliche Salz in gelöster Form verabfolgt, so steigerte sich die Wirkungsgeschwindigkeit noch weiter. Bei intravenöser Injektion fallen die Tiere unter der Spritze, in Sekunden, in Schlaf bzw. Narkose. Entsprechend dieser abnormen Wirkungsgeschwindigkeit ist die Wirkungsdauer außerordentlich kurz. Vögel (*Hondelink*) erwachen nach 30, Mäuse nach 50—60 Minuten aus dem Schlaf. Katzen erwachen nach intravenöser Injektion narkotischer Dosen nach 3—50 Minuten aus der Narkose, je nach der Dosis. Diese Daten charakterisieren die eine auffallende Seite des Evipan bzw. des Evipan-Natrium. Seine andere Seite ist die geringe Giftigkeit. Sie wird am deutlichsten bei intravenöser Injektion: An der Katze rufen bereits 20—25 mg/kg Tier eine Narkose von wenigen Minuten hervor. Dieselben Tiere überleben aber noch 100, oft sogar 110 mg Evipan-Natrium. Aus diesen Daten errechnet sich eine therapeutische Breite von über vier. Diese außergewöhnliche Ungiftigkeit dokumentiert das Evipan als ein echtes

Narkoticum, da es einsteils sehr rasch Analgesie und Reflexlosigkeit hervorruft, das Vasomotoren- und Atemzentrum aber andererseits erst sehr spät narkotisiert. Der Tod tritt stets an Atemlähmung ein. Das Evipan-Natrium dürfte bei intravenöser Injektion zur Narkosevorbereitung und als Basisnarkoticum für kurze Narkosen von 15—20 Minuten Dauer ein für Arzt und Patienten gleich schätzenswertes Narkoticum darstellen. Bei oraler Verabfolgung scheint Evipan das echte Einschlafmittel zu sein für Patienten, die abends nicht einschlafen, oder nach dem Erwachen im Verlaufe der Nacht nicht wieder einschlafen können. Auch beim Evipan ist die Flüchtigkeit seiner Wirkung in seinem rapiden Abbau im Organismus zu suchen. Im Harn narkotisierter Tiere konnten nur 2,3—2,8 % eines nicht näher bestimmbarer Barbitursäurederivates nachgewiesen werden. Bemerkenswert ist, daß Katzen, die durch tägliche Injektion einer nah verwandten Barbitursäure monatelang an diese Substanz gewöhnt wurden, auf zwischengeschaltete Injektionen von Evipan völlig normal reagierten. Der intermediäre Abbau des Evipan und ebenso des Prominal muß also andere Wege gehen, wie der von Barbitursäuren, die nicht am Stickstoff substituiert sind.

Rückblickend muß hervorgehoben werden, daß die beiden Kernprobleme der Pharmakologie der Hypnotica bzw. Narkotica ihre Verteilung im Zentralnervensystem und ihr intermediärer Abbau sind. Nolens volens ließ sich das erste Problem nur im rückläufigen Sinne aus den Folgen (Wirkungsart) auf die Ursache (Teilungskoeffizient) betrachten, da es um die physikalische Ermittlung der Löslichkeitswerte der Barbitursäuren wegen der großen technischen Schwierigkeiten noch schlecht bestellt ist. Etwas weiter sind wir in der Frage des Abbaues der Barbitursäuren gediehen, da man wenigstens die Menge der unverändert ausgeschiedenen Substanz und von einigen ungesättigten Barbitursäurederivaten auch ihre ersten Abbauprodukte im Harn quantitativ erfassen konnte.

Chemisch-physiologische Grundlagen der Arbeitshyperämie

DR. R. RIGLER

Aus dem Pharmakologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG., Werk Höchst

Arbeitende Organe, insbesondere der quergestreifte Muskel, weisen eine erhöhte Blutversorgung auf. Um ein ungefähres Bild von der Größenordnung der Strombettveränderung während der Muskelarbeit zu geben, sei an Untersuchungen von *Krogh* erinnert, der im ruhenden Muskel je Quadratmillimeter des Querschnittes 270 geöffnete Kapillaren im Höchstfall beobachtete, während er unter den gleichen Verhältnissen beim arbeitenden Muskel gegen 2500 durchströmte Kapillaren fand. Diese Durchströmungszunahme läßt sich, wie im hiesigen Laboratorium gezeigt werden konnte, unter bestimmten Voraussetzungen auch am *Laewen-Trendelenburgschen* Froschgefäßpräparat nachweisen, indem man dessen Muskulatur in geeigneter Weise durch indirekte elektrische Reizung in Tätigkeit versetzt.

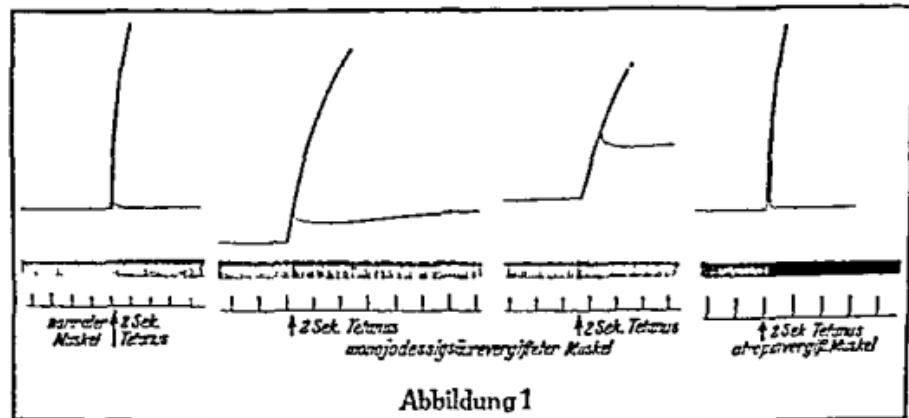


Abbildung 1 zeigt den tiefgreifenden und nachhaltigen Einfluß, den ein zwei Sekunden dauernder Tetanus auf die Durchströmung ausübt. Es ist ohne weiteres klar, daß durch einen derartigen Mechanismus dem vermehrten Sauerstoffbedürfnis

des arbeitenden Muskels Genüge geleistet wird; und nahe liegt es, in der erhöhten Kapillarisierung den ersten Ausdruck beginnenden Sauerstoffmangels zu sehen.

Man hat von der Wirkung saurer Stoffwechselprodukte gesprochen und sich hierbei auf Versuche bezogen, aus denen die große Empfindlichkeit der Gefäße gegen Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration hervorgeht. In diesem Zusammenhang ist es bemerkenswert, daß der Altmeister der Kapillarphysiologie *Krogh*, obschon er mit seiner Ansicht damals vereinzelt dastand, bereits 1923 erklärte, es sei durchaus möglich, ja sogar wahrscheinlich, daß Stoffwechselprodukte, die während der Tätigkeit gebildet werden, eine erweiternde Wirkung auf Kapillaren und Arterien haben, er halte es aber für ebenso unwahrscheinlich, daß eine solche Wirkung auf deren sauren Eigenschaften beruht. Die neueste Entwicklung der Muskelphysiologie hat inzwischen die Anwendung einer Säurehypothese zur Erklärung der vermehrten Durchströmung während der Arbeit vollends unmöglich gemacht. Eine schon früher von *Embden* ausgesprochene Ansicht bestätigend, fanden *Meyerhof* und *Lippmann*, daß der arbeitende Muskel zunächst alkalischer und erst in einem fortgeschrittenen Stadium der Ermüdung sauer wird. Die Zunahme der Durchströmung setzt aber bereits im Beginn der Tätigkeit ein.

Bevor nun auf das eigentliche Thema, die physiologischen Grundlagen der Arbeitshyperämie, eingegangen werden soll, empfiehlt es sich, einen kurzen Rückblick auf die Entwicklung jenes Grenzgebietes zwischen Pharmakologie und Physiologie zu werfen, als dessen Gegenstand die Untersuchung körpereigener, also physiologischer Substanzen mittels pharmakologischer Methoden zu gelten hat. Ein sich von Tag zu Tag immer mehr anhäufendes Tatsachenmaterial führte dazu, Vorgänge, die früher vorwiegend für Äußerungen eines in seinen Einzelheiten zwar unbekannten physikalischen Geschehens gehalten wurden, jetzt mit mehr Aussicht auf Erfolg von

chemischen Gesichtspunkten aus zu betrachten. Es war längst klar geworden, daß der Organismus zur Erfüllung einer Reihe von Funktionen der Mithilfe genau definierter chemischer Stoffe bedarf, für die ohne Präjudiz die Bezeichnung Hormone verwendet werden soll. Immerhin schienen aber derartige hormonale Reaktionen durch die verhältnismäßige Langsamkeit ihres Ablaufs ausgezeichnet zu sein. Nunmehr ermöglichen demgegenüber die neuen von *Otto Loewi* begründeten Vorstellungen die Annahme eines außerordentlich schnellen Ablaufes solcher zwischengeschalteter chemischer Reaktionen, d. h. der Bildung und Zerstörung hormonaler, oder vielleicht besser ausgedrückt, humoraler Stoffe, wie beispielsweise des Vagusstoffes. Dies führt in weiterer Folge dazu, auch bei der Gefäßerweiterung während der Muskelarbeit die Möglichkeit der Neubildung oder Infreiheitsetzung biogener Amine zu berücksichtigen. *Freund* und *Gottlieb* sprechen in diesem Zusammenhang von histaminartigen Substanzen. *Macleod* hält es für möglich, daß Histamin oder ein ähnlicher Stoff die Kapillarerweiterung während der Muskelarbeit verursacht. *Feldberg* und *Schilf* berichten über Versuche von *Schulte*, der den Gehalt des ruhenden Gastrocnemius der Katze an darmkontrahierenden Stoffen mehr als dreimal so hoch wie den des gereizten Muskels fand. Ferner beobachtete *Heß*, daß die aus einem Froschmuskelpräparat abfließende Durchströmungsflüssigkeit am isolierten Meerschweinchen- und Rattendarm Erregungswirkungen nach Art des Acetylcholins hervorruft, die nach Tetanisierung des Muskels wesentlich zunahmen. Die gefäßerweiternde Wirkung des Acetylcholins und Histamins ist zur Genüge bekannt, die Frage ihrer Beteiligung am Zustandekommen der Arbeitshyperämie jedoch keineswegs gesichert. So erscheint z. B. eine autochthone Regulierung der Koronargefäßweite durch Acetylcholin in Anbetracht der besonderen Wirkung dieses Stoffes auf Rhythmus und Kontraktionsablauf sehr unwahrscheinlich.

Andererseits erfährt die Koronardurchströmung unter dem Einfluß von Histamin keinesfalls regelmäßig eine Steigerung, sie nimmt vielmehr je nach der Tierart zu oder ab. Eine Substanz, die aber als Ursache der Arbeitshyperämie in Betracht käme, müßte auch hier regelmäßig Erweiterung bewirken, ohne dabei die Tätigkeit des Herzens etwa gar in depressivem Sinn zu beeinflussen. Es zeigt sich, daß eine in ihrer Kreislaufwirksamkeit bisher unbekannte Gruppe von Körpern diese Bedingungen vollkommen zu erfüllen vermag. Es handelt sich um die in der Skelett- und Herzmuskulatur vorkommenden Nucleotide. Diese sind die Adenosinmonophosphorsäure (Adenylsäure) und die Adenosintriphosphorsäure (Adenylpyrophosphorsäure). Hierher gehört ferner das sich durch Phosphorsäureabspaltung aus den genannten Substanzen ergebende, bezüglich des Einflusses auf den Kreislauf sogar stärker wirkende Nucleosid Adenosin. Das Vorhandensein der Adenylsäure in der Skelett- und Herzmuskulatur ist von *Embden* und *Zimmermann*, jenes der Adenylpyrophosphorsäure von *Fiske* und *Subbarow*, die Kreislaufwirksamkeit aller drei Substanzen zum ersten Male von *Drury* und *Szent-Györgyi* erkannt worden. Auf sie ist nach *Zipf* und Mitarbeitern die vasomotorische Wirkung der sogenannten „Blutfrüngifte“ (*Freund*) zurückzuführen. Von besonderer Bedeutung wurde diese Kategorie von Körpern als sich in Untersuchungen von *Drury* und *Szent-Györgyi*, *Rigler* und *Schaumann*, *Wedd*, *Lindner* und *Rigler*, *Bennet* und *Drury* ihre elektiv coronar-gefäßweiternde Wirkung nachweisen ließ. Adenosin vermag bereits in der Verdünnung 1 : 5 Millionen am *Langendorff*-Herzen ausgesprochen coronargefäßweiternd zu wirken. Untersuchungen im hiesigen Laboratorium ergaben nun, daß die coronargefäßweiternde Wirkung von Adenosin, Muskeladenylsäure und Adenosintriphosphorsäure sich nicht nur auf die üblichen Laboratoriumstiere erstreckt, sondern auch an Herzen von Vögeln und Reptilien zu beobachten ist. Eine

Tabelle gibt den Ausfall der Wirkung bei den verschiedenen Tieren wieder.

Wirkung von Adenosin, Adenylsäure (Adenosinmonophosphorsäure) und Adenosintriphosphorsäure (Adenylpyrophosphorsäure) auf die Herzkrankgefäß folgender Tiere:

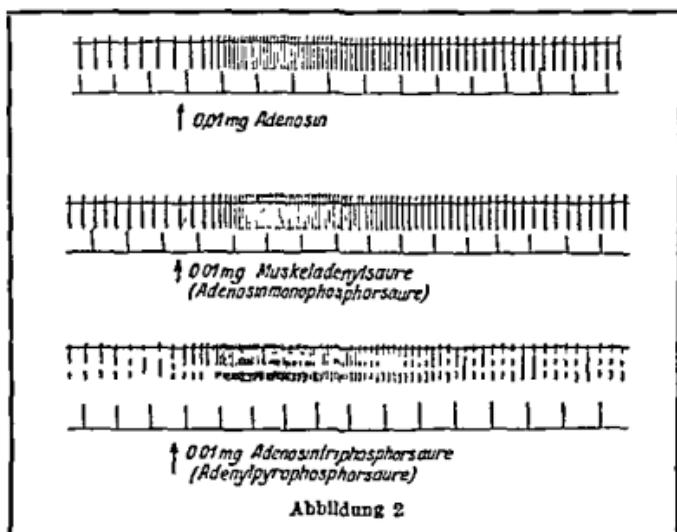
Ziege	erweiternd	Meerschweinchen	erweiternd
Schwein	"	Igel	"
Hund	"	Ratte	"
Katze	"	Huhn	"
Kaninchen	"	Schildkröte	"

Es erhebt sich nun von selbst die Frage, ob nicht im Hinblick auf diese generelle Wirkung die genannten Substanzen, insbesondere die Adenosintriphosphorsäure physiologischerweise beim Zustandekommen der Arbeitshyperämie beteiligt sind. Zunächst wurde untersucht, ob es am Herzen analog der Arbeitshyperämie des Skelettmuskels eine Beziehung zwischen Reiz- und Coronarstromvolumen, d. h. eine autochthone chemische Beeinflussung der Coronargefäßweite gibt, die sich in einer Abhängigkeit der Durchströmungsgröße von der Schlagfrequenz ausdrückt. Die in der letzten Zeit auch von *Jein* gefundene Tatsache, daß die Erweiterung der Coronargefäße nach der Entnervung des Herzens noch durch lokale chemische Faktoren beherrscht wird, läßt mit ziemlicher Sicherheit annehmen, daß der Kontraktionsvorgang als solcher bedingend und regulierend auf den Coronardurchfluß wirkt. Dabei sollen zunächst die mechanischen Faktoren, die durch die Untersuchungen von *Anrep*, *Häusler*, *Davis*, *Littler* und *Volhard jun.* klargestellt worden sind, unberücksichtigt bleiben. In der Tat konnte beobachtet werden, daß die spontane Zunahme der Frequenz am isolierten ringerdurchflossenen Warmblüterherzen im Gefolge des Verschwindens von Überleitungsstörungen mit einer im selben Augenblick einsetzenden Erhöhung des Coronardurchflusses einhergeht, daß umgekehrt mit der Abnahme der Zahl der

Kammerkontraktionen beim Wiedereintritt der Überleitungsstörung die Coronardurchströmung abnimmt. Dieser Befund stellt im Prinzip eine Bestätigung der von *Sassa*, ferner von *Miller*, *Smilk* und *Graber* am isolierten Herzen beobachteten Zunahme der Coronardurchströmung bei künstlicher Erhöhung der Frequenz dar. Es ist aber ohne weiteres verständlich, daß diese Abhängigkeit nicht unter allen Umständen in Erscheinung zu treten braucht, da mit jeder Erhöhung der Pulszahl zugleich die Dauer des systolischen Verschlusses der Coronarbahn in der Zeiteinheit anwächst. Das Vorhandensein größerer Mengen von Adeninnucleotid im Herzen rückt nunmehr wegen der bekannten Beziehungen dieser Substanz zum Kontraktionsvorgang die Möglichkeit nahe, auch die mit der Erhöhung der Frequenz zunehmende Coronardurchströmung hiermit in Zusammenhang zu bringen. Auf die Möglichkeit der Gefäßerweiterung im Herzmuskel durch Stoffwechselprodukte der abgelaufenen Systole wurde bereits von *Hochrein*, *Keller* und *Mancke* hingewiesen. Ein Teil der Wirkung von in der Klinik verwendeten Organpräparaten, wie beispielsweise des *Lacarnol*, das auf einen bestimmten Adenosingehalt eingestellt ist, wird durch das eben Angeführte erklärlich. Sofern ihre orale Anwendung in Frage kommt, könnte diese, wie *Morawitz* meint, ihre Vorläufer in der in früherer Zeit häufiger geübten *beaf-tea*-Therapie haben.

Zur weiteren Aufklärung der chemisch-physiologischen Grundlage der Arbeitshyperämie wurden im hiesigen Laboratorium Versuche an einem Objekt, das eine bessere Beherrschung von Reiz und Reizfolge zuläßt, durchgeführt. Hierzu wurde aus bestimmten Gründen (wegen der am Frosch genau untersuchten Monojodessigsäurevergiftung) das *Lacwen-Trendelenburgsche* Präparat gewählt, welches so hergerichtet wurde, daß neben einer genauen Messung der Durchströmungsgröße zugleich die Muskulatur durch indirekte elektrische Reizung in Tätigkeit versetzt werden konnte. Um an diesem Präparat einen der Arbeitshyperämie vergleichbaren Zustand

bei elektrischer Erregung der Muskulatur zu beobachten, ist es jedoch erforderlich, für eine möglichst langdauernd gleichbleibende Reaktionsbereitschaft der Gefäße, sowie für die Aufrechterhaltung des Gefäßtonus Sorge zu tragen, was durch Verwendung einer von Kochmann zu diesem Zweck angegebenen Ringerlösung geschieht, der Adrenalin 1 : 100 Millionen und 1 % gelagertes Pferdeserum zugesetzt wurde. An derartig behandelten Präparaten bewirkt, wie die eingangs gezeigte Abbildung beweist, ein zwei Sekunden-Tetanus bereits eine sehr lebhafte und langanhaltende Zunahme der Durchströmung. Da diese Wirkung auch am monojodessigsäurevergifteten und am atropinvergifteten Muskel (für letzteren gilt die Angabe jedoch nur unter Einschränkung) zustande kommt, lässt sich der Eintritt der vermehrten Durchströmung nicht auf das Entstehen von Milchsäure oder von acetylcholinartigen Körpern zurückführen. Der Befund am monojodessigsäurevergifteten Muskel bestätigt eine von dem gleichen



Gesichtspunkt aus kürzlich im Kroghschen Laboratorium durchgeführte Arbeit. An eben dem gleichen Präparat wirkt nun auch, wie die Abbildung 2 zeigt, Adenosin, Adenylsäure und Adenosintriphosphorsäure bereits in kleinsten Mengen

(0,01 mg) deutlich durchflußerhöhend. Ferner wurde gefunden, daß die Flüssigkeit, welche durch einen arbeitenden Muskel fließt, häufig die Fähigkeit gewinnt, auch am ruhenden Muskel gefäßweiternd zu wirken. In den Fällen, in denen der Übertragungsversuch positiv ausfiel, ließ sich nachweisen, daß die gefäßweiternde Wirkung der Durchströmungsflüssigkeit aus Kontraktionsperioden durch längeres Stehen zum Verschwinden gebracht werden konnte, wodurch sich Parallelen zu dem von *Freund* als Frühgift bezeichneten, von *Zipf* als Adenylsäureverbindungen aufgeklärten Substanzen ergeben. Die Resistenz gegenüber ammoniakalischer Hydrolyse läßt die Frage einer wesentlichen Beteiligung von Acetylcholin beim Zustandekommen der Arbeitshyperämie als unwahrscheinlich erscheinen. Wenn auch der unmittelbare chemische Nachweis der Adenylsäure in der Durchströmungsflüssigkeit arbeitender Muskeln vor allem wegen der Kleinheit des Betrages noch nicht gelungen ist und auch schwerlich gelingen dürfte, so spricht doch das vorhandene Tatsachenmaterial zugunsten ihrer Beteiligung an der zunehmenden Kapillarisierung des arbeitenden Muskels.

Aus dem Umstand, daß bereits außerordentlich kleine Mengen von Adenosintriphosphorsäure (0,01 mg) am Froschgefäßpräparat eine erhebliche Steigerung des Durchflusses bewirken, während der Gehalt der Muskulatur an dieser Substanz nach den chemischen Analysen von *Meyerhof* und *Lohmann* ein Viertausendfaches dieses Betrages ausmacht, muß der Schluß gezogen werden, daß im ruhenden, unverletzten Skelettmuskel die Adenosintriphosphorsäure nicht in freier, diffusibler Form vorliegt, eine Ansicht, die auch von *Hill* und *Parkinson* geteilt wird. *Hill* begründet diese Annahme mit dem Hinweise, daß bei der verhältnismäßig guten Diffusion, welche die freie Adenosintriphosphorsäure aufweist, der ruhende Muskel trotzdem nicht Adenosintriphosphorsäure an seine Umgebung abgibt. Unsere Versuche sprechen ebenfalls dafür, daß sich im ruhenden Muskel die Adenosintriphosphorsäure in einer kreislaufunwirksamen

Vorstufe vorfindet, die wir der besseren Verständlichkeit halber mit dem Namen Apyrogen belegt haben.

Abschließend sei noch kurz die Frage berührt, welche Rolle für die Durchströmungsgröße der Milchsäurestoffwechsel im Kontraktionsvorgang des Muskels spielt. Seit *Lundsgaard* ist bekannt, daß bei alactacider Kontraktion die Menge der in Reaktion getretenen Adenosintriphosphorsäure höher als in der Norm ist. Unter Umständen könnte sich dies auch in der Dauer und der Stärke der Arbeitshyperämie ausdrücken. Nach einigen in dieser Richtung von uns durchgeföhrten Versuchen scheinen auch Unterschiede gegenüber dem normalen Muskel zu bestehen. Unter dem Einfluß der Monojodessigsäure kann es bereits am ruhenden Muskel zu einer Zunahme der Durchströmung kommen. Damit besteht die Möglichkeit, daß der Milchsäure, wiewohl ihre Eignung zur Gefäßdilatation nicht bestritten werden soll, an sich nicht die Aufgabe zufällt, kapillarerweiternd zu wirken. Sie würde im Gegenteil eine zu weitgehende Kapillarisierung des Muskels während der Arbeit verhindern oder in ihrer Dauer verkürzen, indem sie durch ihr Entstehen die erforderlichen Energien für den Wiederaufbau der vorhin als Apyrogen bezeichneten Vorstufe, der keine kapillarerweiternde Wirkung mehr zukommt, zu liefern vermag. In diesem Zusammenhang dürfte es interessieren, daß der Milchsäurestoffwechsel bei der Nebenniereninsuffizienz, die in mancher Hinsicht dem Bild einer Histaminvergiftung gleicht, also durch Tonusverlust gerade der Muskelkapillaren ausgezeichnet ist, von *v. Arvey* und *Lengyel* im Sinn einer erschwerteten Milchsäurebildung verändert gefunden wurde.

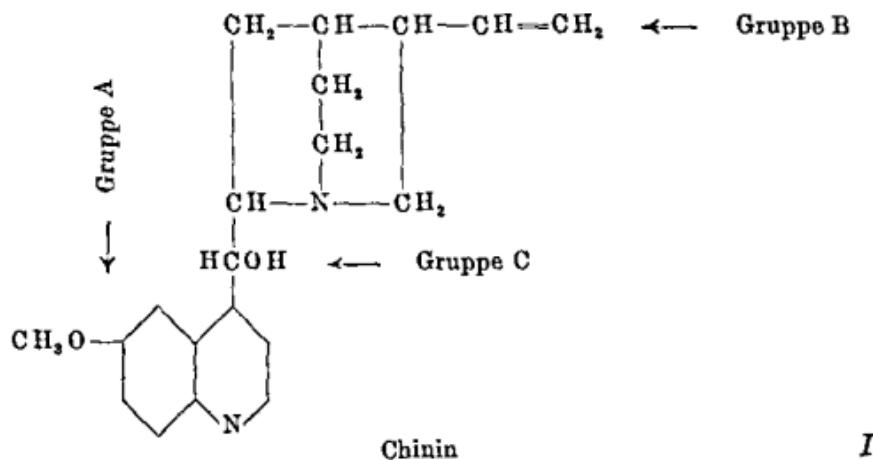
Studien in der Reihe der Chinaalkaloide

DR. FRITZ SCHÖNHÖFER

Aus dem Chemischen Forschungslaboratorium der I. G. Farbenindustrie AG., Werk Elberfeld

Mit der Kenntnis der genauen Konstitutionsformel des Chinins waren dem Chemiker Richtlinien gegeben, Malariamittel zu synthetisieren. Aber nur eine bedeutende Erhöhung der Wirksamkeit konnte einen praktischen Wert für die Therapie der menschlichen Malaria haben und wirtschaftliche Vorteile bringen.

Man hat zwei Wege eingeschlagen, um zu solchen Substanzen zu gelangen. Einmal ging man direkt vom Chininmolekül aus und suchte durch Einführung neuer Gruppen eine Steigerung der Wirksamkeit zu erzielen. Andererseits verwendete man Spaltstücke des Chinins, um daraus durch Synthese chininähnliche Malariamittel zu erhalten.



Den ersten Weg schlugen in der Hauptsache *Morgenroth* und *Giemsä* mit ihren Mitarbeitern ein. *Morgenroth* konzentrierte sich darauf, in die Gruppierung bei A (Formel I) die verschiedensten Alkylreste einzuführen. Dabei wurden Substanzen erhalten, die bei bakteriellen Erkrankungen wirksam waren.

Vorstufe vorfindet, die wir der besseren Verständlichkeit halber mit dem Namen Apyrogen belegt haben.

Abschließend sei noch kurz die Frage berührt, welche Rolle für die Durchströmungsgröße der Milchsäurestoffwechsel im Kontraktionsvorgang des Muskels spielt. Seit *Lundsgaard* ist bekannt, daß bei alactacider Kontraktion die Menge der in Reaktion getretenen Adenosintriphosphorsäure höher als in der Norm ist. Unter Umständen könnte sich dies auch in der Dauer und der Stärke der Arbeitshyperämie ausdrücken. Nach einigen in dieser Richtung von uns durchgeführten Versuchen scheinen auch Unterschiede gegenüber dem normalen Muskel zu bestehen. Unter dem Einfluß der Monojodessigsäure kann es bereits am ruhenden Muskel zu einer Zunahme der Durchströmung kommen. Damit besteht die Möglichkeit, daß der Milchsäure, wiewohl ihre Eignung zur Gefäßdilatation nicht bestritten werden soll, an sich nicht die Aufgabe zufällt, kapillarerweiternd zu wirken. Sie würde im Gegenteil eine zu weitgehende Kapillarisierung des Muskels während der Arbeit verhindern oder in ihrer Dauer verkürzen, indem sie durch ihr Entstehen die erforderlichen Energien für den Wiederaufbau der vorhin als Apyrogen bezeichneten Vorstufe, der keine kapillarerweiternde Wirkung mehr zukommt, zu liefern vermag. In diesem Zusammenhang dürfte es interessieren, daß der Milchsäurestoffwechsel bei der Nebenniereninsuffizienz, die in mancher Hinsicht dem Bild einer Histaminvergiftung gleicht, also durch Tonusverlust gerade der Muskelkapillaren ausgezeichnet ist, von *v. Arvey* und *Lengyel* im Sinn einer erschwerteten Milchsäurebildung verändert gefunden wurde.

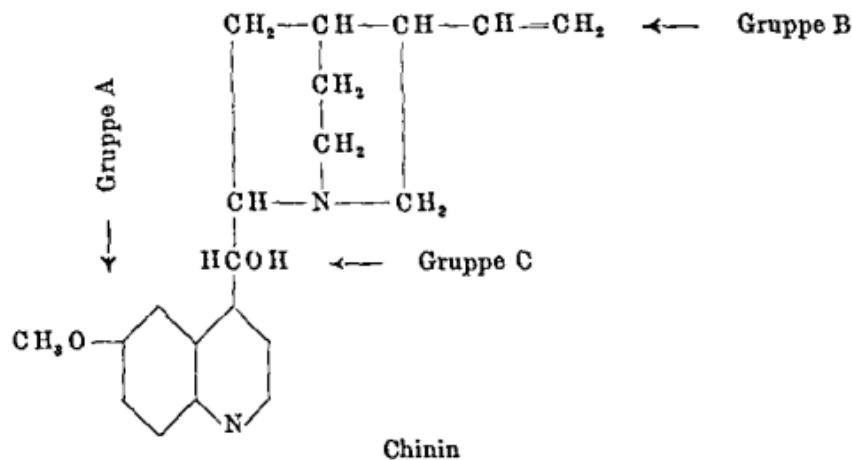
Studien in der Reihe der Chinaalkaloide

DR. FRITZ SCHÖNHÖFER

Aus dem Chemischen Forschungslaboratorium der I. G. Farbenindustrie AG., Werk Elberfeld

Mit der Kenntnis der genauen Konstitutionsformel des Chinins waren dem Chemiker Richtlinien gegeben, Malaria-mittel zu synthetisieren. Aber nur eine bedeutende Erhöhung der Wirksamkeit konnte einen praktischen Wert für die Therapie der menschlichen Malaria haben und wirtschaftliche Vorteile bringen.

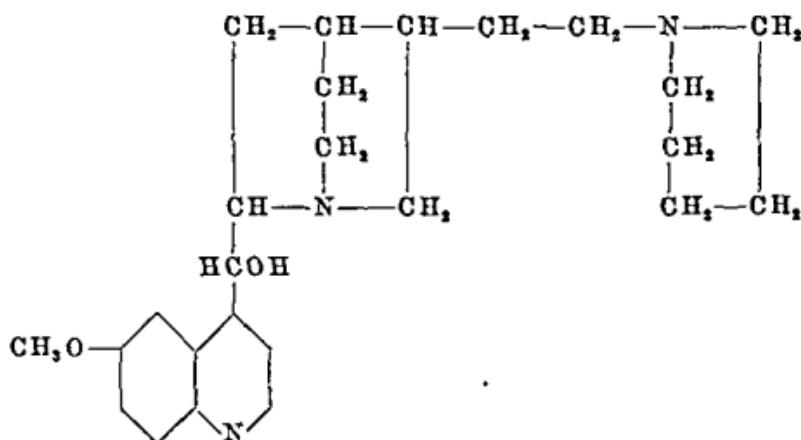
Man hat zwei Wege eingeschlagen, um zu solchen Substanzen zu gelangen. Einmal ging man direkt vom Chininmolekül aus und suchte durch Einführung neuer Gruppen eine Steigerung der Wirksamkeit zu erzielen. Andererseits verwendete man Spaltstücke des Chinins, um daraus durch Synthese chininähnliche Malariamittel zu erhalten.



Den ersten Weg schlugen in der Hauptsache Morgenroth und Giemsa mit ihren Mitarbeitern ein. Morgenroth konzentrierte sich darauf, in die Gruppierung bei A (Formel I) die verschiedensten Alkylreste einzuführen. Dabei wurden Substanzen erhalten, die bei bakteriellen Erkrankungen wirksam waren.

Giemsa bearbeitete auf der anderen Seite vor allem die Stellung B (*Formel I*). Er stellte unter anderem fest, daß die Einführung eines sauren Restes an Stelle der Vinylgruppe des Chininmoleküls die Malariawirkung vollkommen verschwinden ließ.

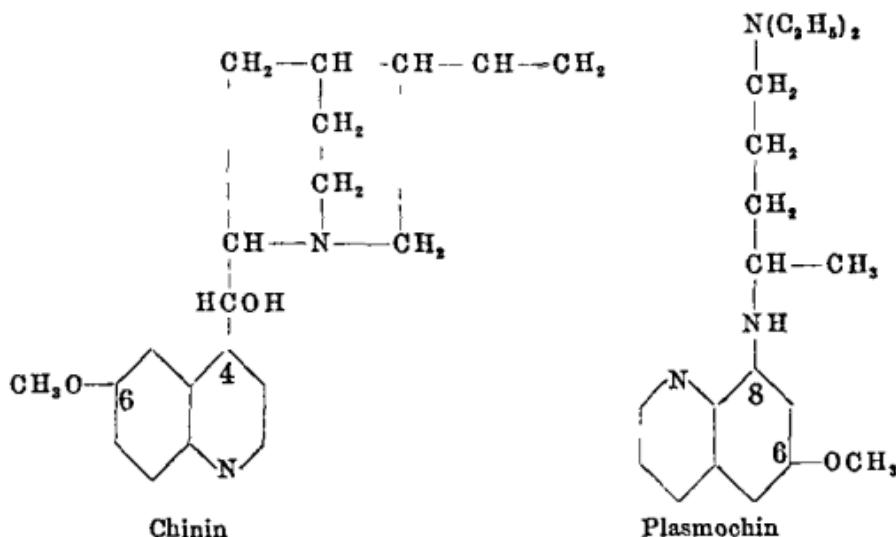
Roehl stellte die Theorie auf, daß man vielleicht die Malariawirkung des Chinins erhöhen könnte, wenn man das Chininmolekül „stark basisch“ macht. Diese theoretischen Überlegungen habe ich auf chemischem Wege zu verwirklichen versucht. Es gelang mir, eine Reihe von Substanzen synthetisch herzustellen, die durch Einführung basischer Gruppen in das Chininmolekül dieser Anforderung entsprachen, wie z. B. aus der *Formel II* zu ersehen ist.



Aber auch diese Verbindungen zeigten — wie andere, hier nicht genannte — im Tierversuch gegenüber dem Chinin keinen Vorteil. In den meisten Fällen waren sie gegen Malaria völlig wirkungslos.

Praktische Ergebnisse in der Malariatherapie konnten später erst erreicht werden durch die gemeinsame Arbeit von Schulemann, Schönhöfer und Wingler, welche ausgehend vom Methylenblau im Plasmochin ein gegen Malaria wirksames Chinolinderivat synthetisierten. Es unterscheidet sich vom Chinin

prinzipiell dadurch, daß im Plasmochin der aliphatisch-basische Anteil über eine Stickstoffgruppe hinweg an den Benzolanteil des Chinolins gebunden ist, während beim Chinin — wie die folgende vergleichende Gegenüberstellung zeigt — das Brückenglied zwischen dem Anteil und dem Chinolinrest — und zwar dessen Pyridinkern — eine Kohlenstoffkette ist.



Plasmochin erwies sich auf Grund von chemotherapeutischen und klinischen Versuchen als ein wirksames und zuverlässiges, synthetisches Malariaheilmittel. Sehr bald mußte man aber erkennen, daß es andere therapeutische Eigenschaften besaß als das Chinin. Diese andersartige Wirkungsweise trat hauptsächlich bei der Malaria tropica in Erscheinung. Während nämlich bei dieser Infektion Chinin auf den ungeschlechtlichen Entwicklungszyklus der Malaria-parasiten (Schizonten) einwirkt und nahezu ohne Einfluß auf die Geschlechtsformen der Parasiten (Gameten) ist, vollzieht sich die Wirkung des Plasmochin in genau entgegengesetzter Weise. Das Plasmochin konnte deshalb das Chinin therapeutisch nicht bei jeder Erscheinungsform der Malaria ersetzen und man muß, um eine optimale Heilwirkung zu erzielen, beide Medikamente gleichzeitig verwenden.

Die Arbeit konzentrierte sich jetzt darauf, festzustellen, auf welche chemische Gruppierung im Chininmolekül die spezifische Wirkung des Chinins auf den ungeschlechtlichen Entwicklungszyklus der Malariaparasiten zurückzuführen ist, die man allgemein als Schizontenmittel bezeichnet. Diese Arbeiten waren vorerst von rein wissenschaftlichem Interesse. Wenn es nämlich gelang, festzustellen, durch welche Gruppierung im Chininmolekül die Schizontenwirkung hervorgerufen wird, so wäre dann ein neuer Weg gewiesen, um aus anderen, einfachen und synthetisch leicht zugänglichen Verbindungen chininartige Malariamittel zu synthetisieren.

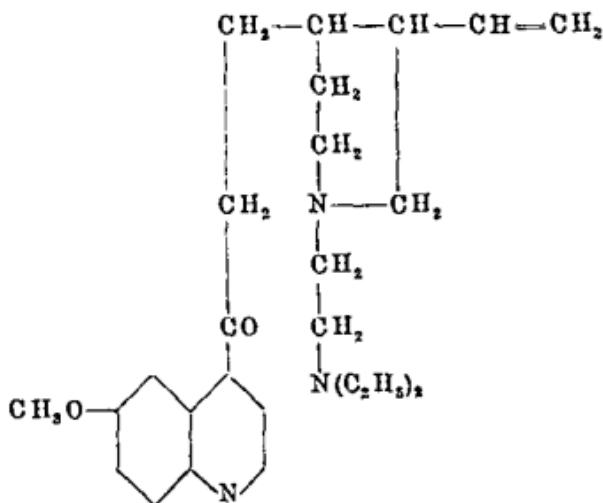
Die chemischen Veränderungen in der Gruppe A und B (*Formel I*) hatten, wie ich oben ausgeführt habe, keine Erkenntnis der spezifischen Malariawirkung erbracht.

Eine weitere Möglichkeit war aber dadurch gegeben, daß die Gruppe C des Chininmoleküls (*Formel I*) chemisch verändert werden konnte. Es war allerdings schon früher bekannt, daß durch Veresterung der Alkoholgruppe die Malariawirkung erhalten bleibt. Auf der anderen Seite war durch die Überführung der Alkohol- in die Ketogruppe, also Umwandlung des Chinins in Chinatoxin, wie bereits *Giemsa* feststellte, eine Wirkung dieser Substanz bei der Vogelmalaria nicht mehr vorhanden.

Nun hat aber die Ketogruppe gegenüber der Alkoholgruppe im allgemeinen die Eigenschaft, dem Molekül mehr einen sauren Charakter zu geben. Deshalb war mit der Möglichkeit zu rechnen, durch Anwendung des Plasmochin-Prinzips, d. h. durch Einführung von aliphatischen basischen Gruppen über Stickstoff hinweg in das Chinatoxin, diese gegen Malaria unwirksame Verbindung wieder in eine wirksame zu verwandeln und dabei vielleicht zu Schizontenmitteln zu gelangen.

Von diesen Überlegungen ausgehend hatte ich die Arbeit nach dieser Richtung in Angriff genommen. Ich gelangte durch Einführung von basischen Resten in das Chinatoxin

zu Verbindungen, wie sie z. B. in *Formel III* zum Ausdruck kommen. Diese angeführte Verbindung hatte aber meinen Erwartungen nicht entsprochen. Eine Malariawirkung war auch hier nicht festzustellen.

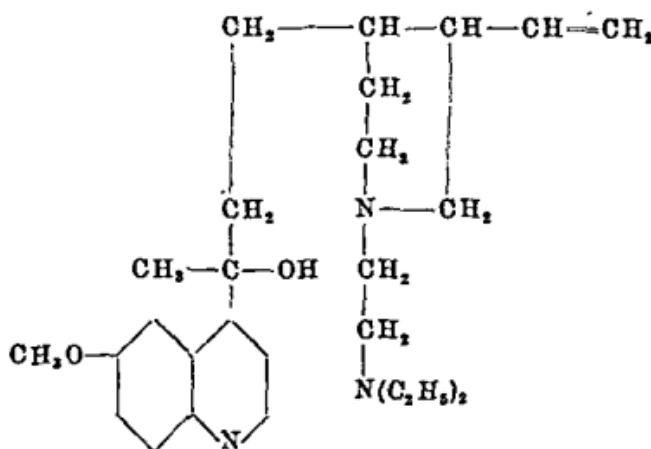


III

Überraschender Weise zeigte aber diese Verbindung in pharmakologischer Beziehung Eigenschaften, die weder dem Chinin noch dem Chinatoxin eigen sind, sondern bei einer ganz anderen Gruppe der Alkaloide angetroffen werden. Es handelt sich dabei um eine spasmolytische Eigenschaft, ähnlich wie wir sie beim Papaverin feststellen können. Hier ist also der Fall eingetreten, daß durch chemische Veränderung eines Chinaalkaloïdes pharmakologische Eigenschaften hervorgerufen werden, die charakteristisch für eine Verbindung sind, die zu den Opiumalkaloïden gehört.

Sobald aber nun diese Verbindung mit dem basischen Rest, ähnlich wie bei dem Chinin, in einen Alkohol, in diesem Fall in einen *tertiären* Alkohol übergeführt wurde (*Formel IV*), verschwand auch damit die papaverinähnliche Wirkung, die

chininähnlichen pharmakologischen Eigenschaften traten wieder hervor und nur die Malariawirkung war nicht mehr vorhanden.



Wenn auch alle diese Variationen des Chininmoleküls zu keinem praktischen Erfolg geführt haben, so erscheinen sie doch theoretisch interessant. Sie zeigen, daß es möglich ist, durch chemische Änderung der Konstitution die pharmakologischen Eigenschaften des Chinins weitgehend zu variieren, d. h. Verbindungen zu erhalten, welche nicht mehr antipyretisch und gegen Malaria wirksam, sondern Desinfektionsmittel (*Morgenroth*) oder, wie diese Arbeit zeigte, Spasmolytica sind.

Die Standardisierung des männlichen Sexualhormons

DR. RUDOLF FUSSGÄNGER

Aus dem Pharmakologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG, Werk Hoechst

I.

Die Erforschung der inneren Sekretion der männlichen Keimdrüse nimmt wohl unter allen endokrinen Organen den längsten Zeitraum ein. Obwohl schon 1849 von *Berthold* über Transplantationsversuche an kastrierten Hähnen berichtet wurde und 1889 der damals 72jährige *Brown-Séquard* seine aufsehen-erregenden Selbstversuche mit dem Pressaft von Hoden be-kanntgab, brachte erst das Jahr 1927 den entscheidenden Fort-schritt, als es ziemlich unabhängig voneinander in Deutschland *Loebe* und *Voß* und in Amerika der Chikagoer Schule um *Gallagher*, *Koch* und *Moore* gelang, wirksame Extrakte aus männlichen Keimdrüsen darzustellen. Kurz darauf (1929) er-schienen auch die Amsterdamer Forscher um *Laqueur*, in Rio de Janeiro *Thales Martins* und *Rocha e Silva*, in England *Funk* und *Harrow* mit brauchbaren Extrakten und Testmethoden. Seit dieser Zeit ist die endokrinologische Literatur angefüllt mit zahlreichen Arbeiten über Darstellung und Nachweismetho-den des männlichen Sexualhormons. Im vergangenen Jahr konnte *Butenandt* in Göttingen berichten,—und damit sind gleich-zeitig die heute wichtigsten Forschungsstätten genannt — daß ihm bereits die Darstellung des kristallisierten Hormons gelungen sei; mit der Konstitutionsermittlung konnte begonnen werden.

Wie war diese rasche Entwicklung der letzten 5 Jahre möglich, nachdem so bedeutende Forscher — ich nenne hier nur die Namen *Biedl*, *Steinach*, *Harms*, *Lipschütz* und *Pézard* — sich so eingehend mit dem Problem der männlichen Keim-drüse beschäftigt hatten, ohne zu brauchbaren Extrakten zu gelangen. Der Grund lag einmal an dem Fehlen eines empfindlichen

Testverfahren, das gesuchte, die Anreicherung des Hormons in jedem Flüssigkeitsakt, einfach und schnell zu verfolgen, sowie an der Tatsache, daß das männliche Hormon nur in außerordentlich kleinen Mengen im Hoden enthalten ist. Chemische Methoden des Nachweises scheinen auch heute noch vollständig aus. So bleibt nur der Heranziehung hierfür passende Methoden ausgearbeitet waren, vor es ein Leidens, nach dem männlichen Hormon in den verschiedensten tierischen Organen und Stoffen, auch Pflanzen, zu suchen.

Die relativ größten Mengen sind im Hoden enthalten. Relativ große Mengen werden auch im Harn von Männern ausgeschieden (*Loebe, Voß, Fünf und Hertwic*). In etwa gleicher Menge wie im Hoden ist das Hormon im Nebenhoden enthalten (*Gallagher*). Im Stierblut findet es *Busquet*. Aus Galle sowie Fäzes der Männer isolierten es *Lorze*, *Kothschild* und *Voß*.

Auffällig ist jedoch, daß in neuerer Zeit auch im weiblichen Organismus und seinen Ausscheidungsprodukten männliches Hormon gefunden wurde, ebenso wie sich auch aus dem männlichen Organismus Follikelhormon hat isolieren lassen.

Als Bildungsstätte für das männliche Hormon kommt zweifellos in der Hauptsache der Hoden in Frage, doch gehen die Meinungen weit auseinander, welchen Zellelementen nun die Bildung besonders zukommt. Im wesentlichen stehen sich zwei Gruppen gegenüber: Während die einen, ausgehend von den grundlegenden Versuchen von *Bouin* und *Ancel* die Produktion in die Zwischenzellen des Hodens — die „interstitielle

Grund vergleichender Versuche an verschiedenen Testmethoden an das Vorhandensein mehrerer, mindestens zweier männlicher Sexualhormone. *Champy*, *Freud* und *Laqueur* schließen das Vorhandensein eines zweiten Hormons aus dem verschiedenen Verhalten ihrer Extrakte auf den später zu schildernden Hahnenkammtest und den Samenblasentest. *Martins* folgert die Dualität aus Parabioseversuchen. Neuerdings glaubt *Freud*, daß diese Diskrepanzen durch Beimengung von Follikelhormon als einer Co-Substanz zu erklären sind.

II.

Welche Methoden stehen uns nun für die biologische Prüfung von Testispräparaten zur Verfügung und welche sind für die laufende Standardisierung des männlichen Sexualhormons geeignet?

Allgemein gültig ist die Forderung nach Spezifität des Tests, d. h. die Reaktion darf nur von dem männlichen Hormon ausgelöst werden. Der zweite wesentliche Faktor ist die Zeit, in der es gelingt, sichere Ergebnisse zu erzielen. Ein weiteres Moment ist die Empfindlichkeit, d. h. die Möglichkeit, mit kleinen Mengen des Hormons schon deutliche Wirkungen zu erzielen, sowie die Abhängigkeit von Dosis und Wirkung. Für die laufende Standardisierung spielt aber noch eine bedeutende Rolle der Materialverbrauch, sowohl vom injizierten Stoff als auch vom Tiermaterial. Schließlich muß verlangt werden, daß der Test leicht ausführbar ist. Unter diesen Gesichtspunkten sollen daher die Testmethoden betrachtet werden.

Ein großer Teil dieser Methoden beruht auf meist älteren Beobachtungen, nach denen sich bei der Kastration der männlichen Tiere wegen des Aufhörens der Produktion von männlichem Hormon ganz allgemein die sekundären männlichen Geschlechtsmerkmale zurückbilden. Injiziert man nun solchen Tieren einen wirksamen Extrakt, so gelingt es in vielen Fällen, diese regressiven Veränderungen aufzuhalten bzw. zu verlangsamen, oder wenn die regressiven Veränderungen bereits ausgebildet sind, also längere Zeit nach der Kastration, diese wieder rückgängig zu machen. Im ersten Fall sprechen wir von einem „prophylaktischen“, im zweiten Fall von einem

„reparatorischen Test“. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, daß man einem infantilen Tier mit noch nicht funktionierender Keimdrüse männliches Hormon gibt und damit die sekundären Geschlechtsmerkmale überhaupt erst zur Ausbildung bringt. Ohne hier alle Möglichkeiten aufzuzählen, bei denen es gelingt, Kastrationsfolgen morphologischer oder funktioneller Art durch Hodenextrakte aufzuheben, sollen hier nur die Versuche besprochen werden, die zu Testmethoden verwandt bzw. vorgeschlagen wurden.

Ein typisches Beispiel bei den Kaltblütern ist der Umklammerungsreflex der Froschmännchen, der nicht mehr ausgelöst wird, wenn die Tiere kastriert werden. Auf Grund von Beobachtungen von *Nußbaum*, *Harms*, *Steinach* und *Biedl* hat *Mc Cartney James* einen Test ausgearbeitet, der diesen Reflex verwendet. Er definiert als eine Einheit diejenige kleinste Menge Hodenhormon, die imstande ist, nach Injektion in den dorsalen Lymphsack bei erwachsenen Winterfröschen den Umklammerungsreflex auszulösen. Eine Nachprüfung des Verfahrens ist noch nicht erfolgt. Die Methode scheint nicht spezifisch genug zu sein.

Eine Testmethode an Fischen haben in letzter Zeit *Glaser* und *Hämpel* und unabhängig davon *Wunder* angegeben. *Glaser* und *Hämpel* benutzen kastrierte Bitterlinge, deren Männchen zur Laichzeit ein sogenanntes Hochzeitskleid anlegen. Nach Kastration tritt diese Hochzeitsfärbung der Männchen nicht mehr spontan auf, wohl aber nach Injektion von Hodenextrakten. Als „Fischeinheit“ gilt die kleinste Menge des Hormons, die bei mindestens drei von vier annähernd gleich großen, dreisömmigen, wenigstens 30 Tage oder länger vorher kastrierten Bitterlingsmännchen ein 4—5 Stunden währendes Hochzeitskleid zu erzeugen vermag. Der große Vorteil der Methode liegt in der kurzen Zeit bis zum Eintritt der Färbung und leichten Beschaffbarkeit des Fischmaterials. Nachteile sind zunächst die Verluste bei der Kastration, in der Hauptsache aber die

Tatsache, daß gerade die Aphrodisiaca (Yohimbin) und andere unspezifische Stoffe auch die Hochzeitsfärbung an den kastrierten Fischmännchen auslösen, da die Wirkung auf einer Hyperämisierung beruht. Der Test ist also weitgehend unspezifisch.

Das Vorgehen *Wunders* ist ganz abzulehnen, da er nicht-kastrierte Fische nimmt, die also noch weniger spezifisch reagieren.

Zu erwähnen wäre noch eine Methode, die *Stanley* und *Tescher* angegeben haben, die Lebhaftigkeit von Goldfischen durch Verfütterung von Hodensubstanzen zu steigern und die Bewegungen der Fische graphisch zu registrieren.

Wohl die meisten Versuche zur Standardisierung des Hodenhormons wurden an Säugetieren angestellt und hier besonders an den kleinen Nagern: Ratte, Meerschweinchen und Maus, doch beweist gerade die Fülle der Versuche, daß keine Methode allen Anforderungen an einen guten Test gerecht wird.

Die Versuche von *Loewe* und *Voß*, die Umwandlung des Kastratenpenis des Kaninchens in ein normales Organ oder die Ausbildung der Stachelorgane des Blindsacks am Meerschweinchenpenis können schon wegen der zu langen Zeit bis zum Erfolg übergegangen werden, ebenso fällt der Aktivitätstest von *Wang* und *Hoskins*, kastrierte Ratten wieder zur volle Lebhaftigkeit normaler Tiere zu bringen, wegen zu subjektiver Bewertungsmöglichkeit aus.

Wichtig aber sind die Versuche, die daraufhin abzielen, die Kastrationsfolgen an den Anhangsorganen des männlichen Sexualapparates entweder aufzuhalten (prophylaktischer Test) bzw. nach Rückbildung wieder zur Neufunktion anzuregen (reparatorischer Test). Es sind dies die Prostata, die Vesiculardrüsen, die *Coeoperschen* Drüsen, das Vas deferens und die Präputialdrüsen. Davon sollen die Vesiculardrüsen gesondert betrachtet werden. Die übrigen Anhangsgebilde zeigen bei der Ratte sämtlich nach Kastration eine Atrophie als auch

mikroskopisch regressive Veränderungen ihrer Schleimhautstruktur, die durch Behandlung mit Hodenhormon wieder rückgängig gemacht werden. Im allgemeinen müssen die Ratten für diese Testmethoden 90—100 Tage kastriert sein, bevor die Behandlung einsetzen kann, die im Durchschnitt 20 Tage dauert. Als Ratteneinheit definieren *Moore* und *Gallagher* diejenige kleinste Menge Hormon, die bei täglicher Einspritzung 50 % der kastrierten Tiere im normalen Zustand erhält. Die Wirkung an der cytologischen Struktur dieser Organe ist viel geringer als an den Vesiculardrüsen. Die Zeitdauer ist für einen Test zu lang. Die Untersuchungen sind an die Namen geknüpft:

Prostata: *Moore, Price, Gallagher, Steinach* und *Korenschevsky*.

Cowpersche Drüse: *Heller*.

Vas deferens: *Benoit, Moore, Vatna, Gallagher*.

Präputialdrüsen: *Loewe* und *Voß*.

Mit den Vesiculardrüsen haben sich *Loewe* und *Voß* am intensivsten beschäftigt. Sie haben ihre Methode ganz auf die Veränderungen aufgebaut, die die cytologische Struktur nach der Kastration erleidet. Dabei atrophieren die Vesiculardrüsen, das Epithel wird platt bis kubisch und zellarm, Sekretgranula fehlen, das Sekret im Lumen nimmt ab und wird chromophob. Nach Behandlung mit männlichem Hormon werden alle diese Kastrationsfolgen rückgängig gemacht. *Loewe* und *Voß* verwandten für ihren „cytologischen Regenerationstest“ (CR-Test I) Mäusemännchen, die vier Wochen vorher kastriert worden waren. Ursprünglich dauerte der Versuch zehn Tage, nach dem sogenannten Schnelltest wird nur noch an drei Tagen injiziert. Die Tiere werden 48 Stunden nach der letzten Injektion getötet. Um die Zeit noch weiter abzukürzen, gingen die beiden Forscher dazu über, lediglich die beginnende Reparation der Vesiculardrüsen als Testobjekt heranzuziehen und die Zahl der Mitosen in einem bestimmten Gesichtsfeld der histologischen Schnitte zu ermitteln (Mitogenesetest).

Dazu wurden die Tiere bereits 48 Stunden nach einer einzigen Injektion getötet. Wenn auch die Spezifität dieser drei Methoden festzustehen scheint, und die histologischen Veränderungen mit wenig Substanz zu erzielen sind, so erfordert doch seine Anwendung so eingehende Erfahrung in der Kenntnis der cytologischen Struktur, daß der Test nur in der Hand sehr Geübter zu brauchbaren Ergebnissen führt.

Im Gegensatz zu *Loewe* und *Voß* verwendet *Muto-Chuij* das makroskopische Verhalten von Samenblase und Prostata der Maus. Durch Zufuhr von Hodenhormon konnte er die Atrophie der Samenblase nach der Kastration aufhalten und beurteilt das Resultat nach dem Gewicht der Organe. Ähnlich gehen *Martins* und *Rocha e Silva* vor.

In eigenen Versuchen habe ich mich davon überzeugt, daß es bei Verwendung gleichmäßigen Mäusematerials durchaus gelingt, die Atrophie der Vesiculardrüsen nach der Kastration, gemessen am Gewicht, aufzuhalten, und daß es lediglich eine Frage größerer Tierreihen ist, um quantitative und brauchbare Auswertungen vorzunehmen. Außer von *Amson* sind die Samenblasen der Ratte schon mehrfach als Testobjekt herangezogen worden. Fußend auf Beobachtungen von *Pézard* und *Gley* haben *Moore*, *Hughes* und *Gallagher*, *Dodds* und *Greenwood* die cytologische Reaktion der Rattensamenblase zur Prüfung ihrer Hodenextrakte verwandt, ohne jedoch eine genaue Testmethode auszuarbeiten. Gegenwärtig arbeitet *Korenschevsky* an einem Samenblasen-Prostatatest. Besonders darum bemüht haben sich *Freud* und *Laqueur*. Sie haben das Gewicht der Rattensamenblase herangezogen. Sie nennen eine Samenblaseneinheit jene kleinste Menge, die, auf zwei Injektionen pro Tag verteilt, jungen Rattenmännchen von 25—45 g vom 4. bis 7. Tag nach der Kastration injiziert wird, und die das Gewicht der Vesiculardrüsen auf über 18 mg steigert.

Schickt man durch den Kopf des Meerschweinchenmännchens einen elektrischen Strom, so treten nach kurzer

Zeit Erektion und Ejakulation auf. Die Hauptmenge des Ejakulats ist das Sekret der Samenblase, das schnell erstarrt. Beim kastrierten Männchen kommt es dagegen fast nie zu einer Gerinnung. Hat man aber solche Meerschweinchen mit Hodenpräparaten behandelt, dann kommt die Gerinnung des Ejakulats wieder zustande. Diese von *Batelli* stammende Beobachtung wurde von *Moore* und *Gallagher* als Test herangezogen (Ejakulationstest), der in der Folge noch von *Kabak* sowie *Cuny* und *Quivy* verwandt worden ist, doch tritt die Gerinnung auch öfters an unbehandelten Kastraten ein. Die Unsicherheit in der Wirkung, seine relative Unempfindlichkeit und die Schwierigkeit der Ausführung lassen diesen Test als Standardisierungsmethode nicht geeignet erscheinen.

Exstirpiert man einem Meerschweinchen einen Hoden, so bleiben die Spermien in dem zu diesem gehörenden Nebenhoden noch 60 Tage am Leben, kastriert man dagegen das Tier vollständig, dann erlischt die Beweglichkeit der Spermien schon nach 23 Tagen (*Benoit*). Mit Hodenextrakten gelingt es, an solchen Kastraten die Beweglichkeit der Spermien im Nebenhoden über die Zeit von 23 Tagen hinaus zu erhalten. Dieser von *Moore* ausgearbeitete Spermienmotilitätstest hat schon deshalb keine Bedeutung erlangen können, da die Zeit wieder viel zu lang ist.

Ein neuer Weg zur Testierung des männlichen Hormons wurde von *Martins* beschrieben. Kastriert man infantile Rattenmännchen, so kann man nach zwei bis drei Wochen im Vorderlappen der Hypophyse der Tiere sogenannte Kastrationszellen nachweisen. Mit Testikelextrakten läßt sich die Bildung dieser Kastrationszellen soweit unterdrücken, daß im Schnitt nur noch ganz wenige solcher Zellen erscheinen. Der Test soll mit $\frac{1}{50}$ der Dosen, die gerade noch auf die akzessorischen Drüsen wirken, positiv ausfallen. Der Test ist durch die jedesmalige histologische Bearbeitung der Hypophyse umständlich, außerdem erfordert er zehn Tage bis zum eindeutigen Ergebnis.

Auch der unter der Kastration veränderte Stoffwechsel und seine Rückführung zur Norm nach Hormonbehandlung ist Gegenstand von Untersuchungen gewesen. Die alten Versuche von *Loewy* und *Richter* sind als zu unspezifisch abzulehnen. Neuerdings hat *Peritz* eine Methode angegeben, die darauf beruht, daß der normalen ausgewachsenen Ratten zugeführte Zucker schon nach einer halben Stunde, gemessen am respiratorischen Quotienten, verbrennt. Bei kastrierten Ratten ist diese Verbrennung verzögert, Hodenverfütterung soll sie wieder zur Norm zurückführen.

Während bisher fast alle beschriebenen Methoden darauf beruhen, Kastrationsfolgen irgendwelcher Art aufzuheben oder mindestens zu verlangsamen, geht *Lendle* einen ganz anderen Weg, indem er den Effekt des männlichen Hormons auf den weiblichen Organismus, d. h. seine antifeminine Wirkung als Test heranzieht.

Aus zahlreichen Versuchen mit Transplantationen von Keimdrüsen des einen Geschlechts in Tiere des anderen Geschlechts, sowie aus Parabioseversuchen haben sich antifeminine und antimaskuline Wirkungen erzielen lassen. So konnten *Ihrke* und *d'Amour* am normalen Rattenweibchen durch Zufuhr von Hodenhormon den Oestrus unterdrücken. Dieselben Beobachtungen machte *Lendle* an Ratte und Maus. Er baute diese Methode zum Test aus und injizierte weiblichen Ratten von 100—200 g, deren Brunstzyklus einen Abstand von 6—7 Tagen haben soll, die zu prüfenden Extrakte 5 Tage lang vom letzten Brunntag an. Die Brunsthemmung wird als positiv angesehen, wenn mindestens ein Intervall von 10 Tagen zwischen dem vorangehenden und dem folgenden Vollbrunststadium liegt. Über den Mechanismus kommt *Lendle* zu dem Schluß, daß es sich hier nicht um einen direkten Antagonismus, sondern um eine Hemmung des Ovulationsprozesses handelt. Er vermutet bereits, daß das männliche Hormon die Brunsthemmung über die Hypophyse bewirkt.

Obwohl es wegen der therapeutischen Bedeutung des männlichen Sexualhormons von Interesse wäre, am Säugetier einen brauchbaren Test in Händen zu haben, erfüllt doch keine der bisher geschilderten Methoden die an sie gestellten Bedingungen. Wir sind deshalb heute fast ausschließlich angewiesen auf Methoden, die am Vogel ausgebildet wurden.

Die wichtigste und sicher meist angewandte Methode zur Standardisierung des männlichen Sexualhormons ist wohl der Hahnenkammtest. Kastriert man junge Hähne, so bleiben Kamm, Ohr und Bartlappen klein. Kastriert man ältere Hähne, so gehen die genannten Organe im Wachstum stark zurück und werden blaß. Auf Anregung von *Gley* hat nun *Pézard* Hodenimplantationen und Injektion von Extrakten an solchen kastrierten Hähnen vorgenommen und ein vollständiges Schwinden der Kastrationsfolgen erzielt. Der Kamm wuchs stark in Länge und Höhe, Ohr und Bartlappen nahmen wieder die normale Form und Größe an. Diese Beobachtungen *Pézards*, die auch *Walker* und *Lipschütz* schon gemacht haben, wurden nun von den Chikagoer Forschern *McGee*, *Juhn*, *Domm*, *Gallagher* und *Koch* im Jahre 1927 erstmalig zur biologischen Prüfung ihrer Testispräparate herangezogen und zu einer Standardisierungsmethode ausgebaut. Sie verwandten vollständig kastrierte braune Leghornhähne im Alter von 1—3 Jahren und definieren als eine Einheit den täglichen Bedarf an Hormon, der nötig ist, um in fünf Tagen ein mittleres Wachstum von fünf mm Länge und Höhe an wenigstens fünf braunen Leghornkapuinen zu erzielen. *Womack*, *Domm*, *Koch* und *Juhn* wiesen dabei auf den Einfluß hin, den das Licht auf das Kammwachstum ausübt. Es heimt bzw. verzögert die Wirkung. Sehr eingehend haben sich die Amsterdamer Forscher um *Laqueur*, *Freud* und *de Fréméry* um die Ausbildung des Hahnenkammtestes bemüht. *de Fréméry* hat ein einfaches Verfahren angegeben, das Schattenbild der Kämme zu photographieren und die Kammfläche planimetrisch zu bestimmen. Als Einheit

definiert *Laqueur*: die Menge männlichen Hormons, die in zwei gleichen Teilen subkutan eingespritzt wird, ist die Tagesdosis. Eine Hahneneinheit ist die kleinste Tagesdosis, die wenigstens drei kastrierten Hähnen vier Tage hintereinander gegeben, am fünften Tag (bei mindestens $\frac{2}{3}$ der Tiere) ein Flächenwachstum von mehr als 15 % bewirkt.

Außer diesen Forschern haben den Hahnenkammtest benutzt: *Funk* und *Harrow* zur Auswertung ihrer Präparate aus Männerharn; *Dodds*, *Greenwood* und *Gallimore* für Extrakte aus Hoden und Urin; *Butenandt* für die Reindarstellung des männlichen Hormons, ferner *Schöller* und *Gehrke*, *Zavadovsky*, *Kabak* u. a. Fast jeder der Forscher hat dabei seine eigene Technik ausgebildet und eine eigene Hahneneinheit angegeben, die in folgender Tabelle zusammengestellt sind:

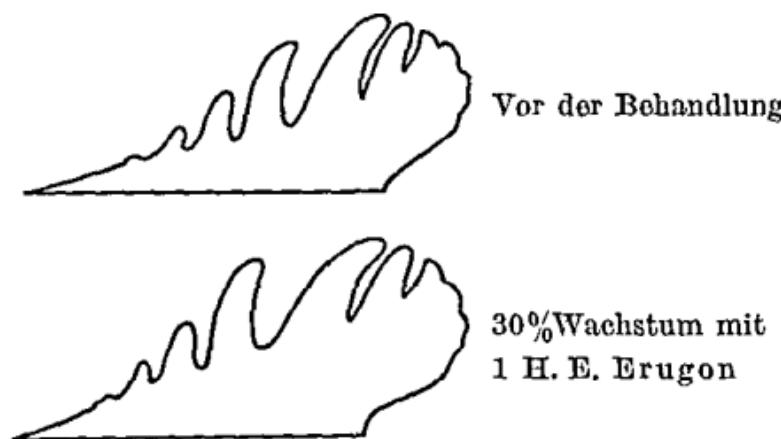
	Literatur	Zahl der Injekt.-Tage	Ab-lesung am	Kamm-wachstum	Zahl der Tiere
1. <i>Erugon Hoechst</i>	—	5	7. Tag	30 %	3
2. <i>Laqueur</i>	Bioch. Z. 1931, Bd. 231, S. 1	4	5. Tag	15 %	2 von 3
3. <i>Butenandt</i>	Z. f. angew. Chem. 1931, S. 905	2	3. u. 4. Tag	20 %	3
4. <i>Schöller</i> und <i>Gehrke</i>	Zahnärztl. Mittlg. 1931, S. 376	2	3. Tag	20 %	2 von 3
5. <i>Gallagher</i> und <i>Koch</i>	Journ. of Pharm. Exp. Therap. 40, S. 327, 1930	5	5. Tag	5 mm Länge + Höhe	5
6. <i>Funk</i> , <i>Harrow</i> und <i>Lejwa</i>	Amer. J. of Phys. 92, S. 440, 1930	10	11. Tag	10 mm Länge	6

Der Hahnenkammtest erfüllt sehr viele von den Anforderungen, die eingangs an eine gute Testmethode gestellt wurden. Er ist spezifisch, er erfordert nur wenige Tage Dauer. Hat man wirksame Extrakte, so ist im Bereich des Schwellenwertes die Abhängigkeit von Dosis und Wirkung sehr günstig. Eingehende Versuche über die Beziehungen zwischen Größe der Dosis,

Dauer der Behandlung, Größe des Kamms und Gewicht der Hähne haben *Gallagher* und *Koch* sowie *Freud* und *Laqueur* vorgenommen. Sie haben zahlreiche Wirkungskurven aufgestellt, aus denen hervorgeht, daß innerhalb eines gewissen Wirkungsbereiches einfache Funktionen gelten. Bedingung ist jedoch, daß die verwandten Kapaune vollständig kastriert waren und mehrfach daraufhin kontrolliert wurden, daß die Kämme nach dem Aussetzen der Behandlung sich wieder zurückbilden. Die Tiere können nach dem Abklingen der Wirkung wieder benutzt werden. Ein Nachteil ist das teure und große Tiermaterial sowie die großen Substanzmengen, die benötigt werden. Auf Grund der guten Erfahrungen benutzen wir zur Auswertung unseres männlichen Sexualhormons *Erugon* ausschließlich den Hahnenkammtest. Das Präparat ist auf zwei Hahneneinheiten im Kubikzentimeter eingestellt. Wir verstehen unter einer Hahneneinheit die pro Tag injizierte Menge Substanz, die nach fünfmaliger Injektion am siebenten Tag — vom Beginn der Injektion gerechnet — am kastrierten weißen Leghornhahn ein Kammwachstum von 30 % hervorruft.

Zum Schluß noch ein paar Worte über die quantitativen Beziehungen, die bisher zwischen den einzelnen Testmethoden aufgefunden wurden. *Lendle* gibt an, daß er mit seinem Brunsthemmungstest noch die Hormonmenge erfaßt, die einem Extrakt aus 21 g frischer Hodensubstanz entspricht. Da auf Grund anderer Angaben aus etwa 50 g frischer Hodensubstanz 1 H.-E. wirksames Hormon gewonnen werden kann, so würde eine Hahneneinheit = $2\frac{1}{2}$ Brunsthemmungseinheiten entsprechen. *Siebke* kann ein festes Verhältnis der Einheiten der verschiedenen Teste untereinander nicht feststellen. Eingehender haben *Loewe* und *Voß* die verschiedenen Testmethoden miteinander verglichen. Sie stellen fest, daß für den positiven Hahnenkammtest die 5—10fache Dosis des männlichen Hormons gegeben werden muß, die gerade eine positive Reaktion im CR-Test gibt. Auf der andern Seite sind erst so große Dosen, die eine

restlose cytologische Regeneration des Vesikulardrüsenepithels bewirken, in der Lage, makroskopisch die Samenblasen zu ver-



größern. Auch *Moore* und *Gallagher* haben die Empfindlichkeitsgrenzen des Säugertestes im Vergleich mit dem Hahnenkammtest untersucht. Sie finden abnehmende Empfindlichkeit in der Reihenfolge:

Spermatozoenbeweglichkeit (10 mal so empfindlich wie der Cytologischer Prostata test, [H.K.-Test], Samenblasen, Cowpersche Drusen, Vas deferens, Elektrischer Ejakulationstest.

Dabei sind $\frac{1}{20}$ der auf S. 218 angegebenen Ratteneinheit noch an den cytologischen Veränderungen der Prostata wirksam, $\frac{1}{6}$ noch an der Samenblase, während einer Ratteneinheit etwa sechs Hahneneinheiten entsprechen. Schließlich fanden *Freud* und *Münch* bei Prüfung roher Auszüge von männlichem Hormon aus Harn ein Verhältnis ihrer Hahneneinheit zu ihrer Ratteneinheit wie 4 : 1. Die Tatsache, daß wir mit einer Hahneneinheit eine morphologisch so starke Veränderung wie das 30 %ige Kammwachstum erzielen und der Vergleich mit der Empfindlichkeit der andern Teste zeigen doch, daß wir in der Hahneneinheit eine sehr große Einheit vor uns haben. Niemals wächst der Kamm eines nichtkastrierten Hahns in diesem Alter und

gleicher Zeit schon normalerweise so stark wie nach Behandlung, d. h. wir führen dem Tier eine weit größere Hormonmenge zu als seine Keimdrüsen im gleichen Zeitraum produzieren.

Zusammenfassend geht aus der Besprechung der verschiedenen Testmethoden wohl eindeutig hervor, daß allen Methoden solche Mängel anhaften, sei es nun der Spezifität, der Empfindlichkeit und der Zeitdauer, daß sie für praktische Zwecke nicht geeignet sind. Nur der Hahnenkammtest erfüllt die Anforderungen in solchem Maße, daß er für die laufende Standardisierung den Test der Wahl darstellt.

Biologische Grundlagen zur experimentellen Therapie der Wurmkrankheiten

DR. OSKAR WAGNER

Aus dem Parasitologischen Institut der I. G. Farbenindustrie AG., Werk Hoechst

Die biologischen Untersuchungen der letzten beiden Jahrzehnte haben uns eine Fülle von neuen Gesichtspunkten gegeben, welche die durch Parasiten hervorgerufenen Erkrankungen in einem anderen Licht erscheinen lassen als dies der früheren Auffassung entsprach. Dadurch, daß wir die Wechselbeziehungen, die der eingedrungene Parasit mit seinem Wirt eingeha, immer klarer als früher kennengelernt haben, sind die von ihm hervorgerufenen Krankheiten in Analogie zu den von den niederen einzelligen Lebewesen hervorgerufenen Infektionskrankheiten getreten. Die Gesichtspunkte, die bei der experimentellen Therapie dieser Erkrankungen sich als Forschungsprinzipien bewährt haben, haben auch für dieses bisher weniger beachtete Spezialgebiet an Geltung gewonnen. Laboratoriumsmethoden, die in der experimentellen Therapie der von Protozoen oder Bakterien hervorgerufenen Krankheiten ausgebildet wurden, konnten mutatis mutandis auch für die Ausarbeitung von Bekämpfungsmethoden der Wurmkrankheiten sinngemäß herangezogen werden. Andererseits aber hat die Einsicht in den komplizierten Entwicklungsmechanismus, den viele der Parasiten durchlaufen müssen, ehe sie schließlich wieder zur Geschlechtsreife heranwachsen, die Möglichkeit gegeben, den Lebenszyklus des Tieres an den verschiedensten Stellen zu durchbrechen und damit die Verbreitung der Erkrankung wirksam zu bekämpfen. Auch hier haben Erfahrungen auf anderen schon früher intensiv bearbeiteten Gebieten mitbefruchtend gewirkt, beispielsweise die Bekämpfung der Malaria, bei der es ja auch darauf ankommt, den Zyklus, den der Parasit in

verschiedenen Organismen zwangsläufig durchlaufen muß, an der einen oder anderen Stelle zu unterbrechen.

Im einzelnen werden die Wege, die die Forschung im Laboratorium einzuschlagen hat, je nach der Art der verschiedenen Wurmkrankheiten völlig andere und nach der Art des Entwicklungszyklus ganz verschiedene sein müssen. Im folgenden soll dies an drei typischen Beispielen erläutert werden, wobei die einzelnen Möglichkeiten für eine praktische Bekämpfung der Seuche im besonderen erklärt werden können.

Wir beginnen mit einer Trematoden-Erkrankung, die für die Tierzucht gerade in unseren Breiten in den letzten Jahren eine ganz besondere Bedeutung gewonnen hat, nämlich der Leberegelseuche. Diese wird hervorgerufen durch einen Saugwurm (*Fasciola hepatica*), der hauptsächlich in den Gallengängen bei unseren Weidetieren, vor allen Dingen bei Schafen und Rindern sich ansiedelt. Allein durch seine mechanische Anwesenheit schon führt er zu schweren degenerativen Veränderungen der Gallengangwände und anschließend auch des umgebenden Lebergewebes, so daß die befallenen Tiere unter Erscheinungen eingehen, die im wesentlichen der Lebercirrhose und der Leberatrophie entsprechen. Aber auch dort, wo die Veränderungen nicht so hochgradig sind, daß die Tiere denselben erliegen, führt der Befall dennoch zu einer erheblichen Wertminderung, da bei der Schlachtung die von den Egel befallenen Organe bzw. Organteile als zum menschlichen Genuß untauglich vernichtet werden müssen. Die geschlechtsreifen Egel in der Leber produzieren reichliche Mengen von Eiern, die mit der Galle in den Darm gelangen und von dort aus wieder auf der Weide verstreut werden. In den ausgeschiedenen Eiern entwickeln sich nun besonders in kleinen Wasseransammlungen und auf feuchtem Boden Flimmerlarven (Miracidien), die aber nun ihrerseits nicht wieder direkt das empfängliche Weidetier befallen können, sondern eine Zwischenentwicklung, und zwar in einer Zwergh-Schlammschnecke durchmachen müssen. Ohne

diesen Zwischenwirt, die Schnecke, ist die aus dem Ei ausgeschlüpfte Flimmerlarve für das empfängliche Tier nicht infektiös. Es ist also hier ganz ähnlich wie in dem oben erwähnten Beispiel der Malaria, wo auch ein zwangsläufiger Wirtswechsel zwischen Mensch und Mücke für die Weiterverbreitung der Erkrankung notwendig wird. Ähnlich wie dort in der Mücke macht hier der Parasit in der Schnecke einen Entwicklungsgang durch, der zu einer sehr starken Vermehrung führt, hier allerdings auf Grund einer ungeschlechtlichen Vermehrung des Leberegel-Parasiten. Aus der einen in den Schneckenleib eingedrungenen Flimmerlarve entwickelt sich eine große Anzahl Schwanzlarven (Cercarien), die aus dem Körper der Schnecke wieder ausschwärmen, sich an den umgebenden Gräsern einkapseln, bis sie wieder mit den Grashalmen von Weidetieren gefressen werden. Dann erst sind sie befähigt, in den Wirtsorganismus einzudringen und in dessen Gallengängen zu der anfangs geschilderten Geschlechtsform heranzuwachsen, so daß hiermit der Zyklus geschlossen ist.

Nachdem dieser Entwicklungsgang in seinen Einzelheiten erkannt war (*R. Leuckart, A. P. Thomas*), bot sich auch die Möglichkeit, an den verschiedensten Punkten diesen Kreislauf zu durchbrechen. Die Vernichtung der Leberegelschnecke (*Galba truncatula*) in Analogie zur Mückenbekämpfung bei der Malaria — sei es nun mit chemischen Mitteln oder durch Grabenreinigung, Melioration, Drainage, Ansiedlung von verschiedenen natürlichen Feinden der Schnecken (Enten) — war der erste der Bekämpfungswege. Dieser Weg bot umso mehr Aussicht auf Erfolg, als erkannt wurde, daß der Leberegelparasit eine einzige Schneckenart bei uns in Europa bevorzugt. Bisher ist es noch nicht gelungen, andere einheimische Schneckenarten mit der Flimmerlarve des Leberegels so zu infizieren, daß infektionstüchtige Schwanzlarven in derselben Weise ebenso zahlreich gebildet werden. Nur dort also ist mit der Verbreitung der Seuche zu rechnen, wo diese Schneckenart

vorkommt. Fehlt sie, so ist auch der Import von leberegel-infizierten Tieren nicht imstande, einen lokalen Seuchenausbruch hervorzurufen. Allerdings sind an verschiedenen Stellen im Auslande (Amerika, Südafrika, Australien, Philippinen), wo die Zwergschlammschnecke (*Galba truncatula*) nicht vorzukommen scheint, andere nahe verwandte Schneckenarten in den Entwicklungskreis des gemeinen Leberegels getreten. Für Europa kommt dies jedoch nach den bisherigen Nachforschungen nicht mit Sicherheit in Betracht.

Neuerdings ist man darangegangen, durch systematische Untersuchungen das Verbreitungsgebiet der Leberegelschnecke seuchen-geographisch festzulegen, um in diesen Gegenden die Abwehrmaßnahmen zu konzentrieren. Für die experimentelle Prüfung aber ergab sich die Aufgabe, geeignete Chemikalien ausfindig zu machen, die eine rasche Vernichtung der Schnecken herbeiführen, ohne daß damit auch Schädigungen für die pflanzenfressenden Tiere entstehen. Diese Versuche haben zur Anwendung von Kupfersulfat in hohen Verdünnungen geführt.

Für die zweite Bekämpfungsmaßnahme, die sich gegen die an den Gräsern anhaftenden invasionsfähigen Dauerformen (Cysten) richtet, ist es naturgemäß schwierig, Präparate zu finden, welche die ziemlich dicke Cystenhülle durchdringen, ohne gleichzeitig den Pflanzenwuchs oder den Futterwert des damit behandelten Heues wesentlich herabzumindern.

Dagegen erscheint es heute noch am aussichtsreichsten, die Invasionsquelle im kranken Tier selbst zu verstopfen, und zwar dadurch, daß man versucht, die eierproduzierende Geschlechtsform in den Gallengängen abzutöten oder sie doch zum Verlassen der Gallengänge zu zwingen und dadurch die weitere Eiproduktion unmöglich zu machen. Die Erprobung von Medikamenten, die sich hierfür besonders eignen, wird weitgehend dadurch unterstützt, daß es gelang, einzelne unserer pflanzenfressenden Versuchstiere (Meerschweinchen und Kaninchen)

künstlich zu infizieren, so daß die Wirkung von chemischen Substanzen nach den Prinzipien des chemotherapeutischen Versuchs im Reihenversuch ausgewertet werden kann.

Die Eigenart dieses Zyklus eines Trematoden, die es uns ermöglicht, gleichzeitig an verschiedenen verletzbaren Stellen einzugreifen, gibt uns auch die Möglichkeit, durch Kombination der verschiedenen Bekämpfungsmethoden eine Summation der Erfolge bei der Bekämpfung der Seuche zu erzielen, in ähnlicher Weise wie man bei der Malaria die Heilung der Erkrankten und gleichzeitig die Vernichtung der Überträger versucht.

Noch komplizierter ist nach dem heutigen Stand der Erkenntnis der Entwicklungsablauf bei einem Vertreter einer ganz anderen Gruppe von Würmern (Cestoden), dem breiten Bandwurm des Menschen (*Diphyllobothrium latum* Syn. *Dibothriocephalus latus*). Hier ist nicht nur ein Zwischenwirt, sondern es sind zwei verschiedene Zwischenwirte notwendig, damit das von dem geschlechtsreifen Parasit abgelegte Ei wieder die invasionsfähige Form für das empfängliche Säugetier erreichen kann.

Der breite Bandwurm des Menschen scheidet in den Darm des Infizierten fortgesetzt Eier aus, die mit Kot und Jauche in Gewässer gelangen können. Ganz analog wie beim Leberegel entwickelt sich in diesen Eiern eine Flimmerlarve (*Oncosphaera*), die in das Wasser ausschwärmt und dort in bestimmten kleinen Wasserflöhen (Zykllops- und Kopepoden-Arten) ihren ersten Entwicklungsgang durchläuft. Fische (Hechte, Barsche, Quappen), die diese kleinen Tiere mit der Nahrung aufnehmen, infizieren sich auf diese Weise und werden zum zweiten Zwischenwirt oder Transportwirt (*Fülleborn*). In den Organen und im Muskelfleisch der Fische entwickeln sich alsdann kleine Würmchen, die ihrerseits noch nicht weiter zum geschlechtsreifen Bandwurm heranwachsen können, bis sie in den Darm eines empfänglichen Tieres gelangen. Menschen, die solche infizierten

Fische in rohem oder in schlecht gekochtem Zustande (Quappenleber, Fischsalat, Fischmayonnaise, Hechtkaviar u. dgl.) essen, oder Tiere, welche die Abfälle solcher infizierten Fische fressen, infizieren sich dann, und in ihrem Darm entwickelt sich darauf das kleine Würmchen zu einem geschlechtsreifen, unter Umständen meterlangen Bandwurm.

Dieser Entwicklungszyklus eines Cestoden zeigt bereits, daß es sich hier um eine exquisite Erkrankung handelt, die an bestimmte Örtlichkeiten gebunden ist und in erster Linie eine Erkrankung der Fischereibevölkerung darstellt, z. B. am Genfer See, Bodensee und auf der Kurischen Nehrung sowie im Gebiet des Memeldeltas.

Die schweren Schädigungen, die der Stoffwechsel und die Blutbildung des Infizierten infolge des Wurmbefalls erleiden, lassen eine wirksame Bekämpfung gerade dieses Bandwurms besonders dringend notwendig erscheinen. Nachdem es gelungen ist, den Entwicklungszyklus auch in Laboratorien willkürlich in seinen verschiedenen Phasen zu reproduzieren, ist man auch in der Lage, Versuchstiere zu jeder Zeit mit infektionstüchtigem Fischmaterial zu infizieren und sich dadurch ein Versuchsmodell für chemo-therapeutische Reihenversuche zu schaffen. Naturgemäß muß sich hier die Bekämpfung auf die Behandlung der Erkrankten beschränken, um auf diese Weise eine der Infektionsquellen zu verstopfen und zu verhüten, daß der Entwicklungszyklus immer von neuem in Gang gesetzt wird. Derartige Maßnahmen müssen aber versagen, wenn nicht auch gleichzeitig die Verseuchung der Gewässer durch w提醒kranke Haustiere verhütet wird, indem man die infizierten Katzen und Hunde ausmerzt bzw. mit spezifisch wirksamen Arzneimitteln behandelt.

Als Beispiel einer Infektion mit Fadenwürmern (Nematoden) sei die Ascariden- (Spulwurm-) Infektion des Menschen angeführt. Auch hier ist der Infektionszyklus kein so einfacher, wie man sich dies früher vorstellte. Zwar fehlt hier

ein Zwischenwirt, aber der Organismus des Wurmträgers ist hier selbst Wirt und Zwischenwirt zugleich (*Fülleborn*). Die im Darm des Infizierten lebenden geschlechtsreifen Weibchen produzieren massenhaft Eier, die mit dem Kot in die Außenwelt gelangen und dort einen Reifungsprozeß durchmachen. Gelangen sie dann durch Verunreinigung von Nahrungsmitteln oder durch Sand von Spielplätzen wieder in den Mund von infektionsfähigen Personen, insbesondere von Kindern, so schlüpfen die Larven im Darmkanal aus, gelangen durch das Venensystem zuerst in die Leber, dann in das rechte Herz und von da in die Lunge; dort bohren sie sich aktiv aus den Kapillaren in die Alveolen aus, werden vom Flimmerepithel der Bronchien und Trachea nach aufwärts in den Kehlkopf befördert und verschluckt und kommen so durch den Oesophagus wieder in den Magen. Nun mehr besitzen sie die Fähigkeit, sich im Dünndarm anzusiedeln, zu geschlechtsreifen Würmern auszuwachsen und nach erfolgter Befruchtung durch neue Eierproduktion den Entwicklungs-Kreislauf wieder in Gang zu setzen.

Da die Bemühungen, die in die Außenwelt gelangten sehr widerstandsfähigen Eier restlos zu vernichten, bisher zu keinem leicht durchführbaren, vollbefriedigenden Ergebnis geführt haben, erschien es besonders wichtig, die Bekämpfung der Infektion selbst im Wirtsorganismus vorzunehmen. Die Kenntnis der Biologie ergibt Möglichkeiten, die Lösung dieses Problems auf experimentellem Wege anzustreben. Man kann den *Ascaris* des Menschen durch Verfütterung reifer Eier oder perkutan mit Hilfe von Larven auf alle möglichen Versuchstiere übertragen und seinen Werdegang bis zur Ansiedlung in der Lunge genau verfolgen.

Die experimentelle Infektion mit Ascariden war aber auch in anderer Hinsicht von Interesse, denn sie versetzte uns in die Lage, auch die Abwehrmaßnahmen zu studieren, die der Körper auf die Infektion — denn um eine solche handelt es sich ja hier — mit den wandernden Larven der Ascariden in

Gang setzt. Systematische Versuche in dieser Richtung haben uns gezeigt, daß der mit Wurmlarven infizierte Körper in derselben Weise wie gegen Krankheitserreger bakterieller Natur auch hier mit der Mobilisierung seines Abwehrorganismus reagiert. Wenn man nämlich ein Versuchstier mehrfach mit denselben Wurmlarven infiziert und nach Überstehen dieser Vorbehandlung eine neue Infektion setzt, so kann man beobachten, daß diese letzte Infektion im Vergleich zu der Vorbehandlung sehr viel schwächer verläuft, ja unter Umständen überhaupt nicht mehr angeht. Denselben Effekt kann man auch durch Vorbehandlung mit abgetöteter Körpersubstanz der geschlechtsreifen Würmer erzielen, woraus sich ergibt, daß dieser Immunisierungsvorgang weitgehende Parallelen zu den analogen Immunisierungsmethoden mit abgetöteten bakteriellen Krankheitserregern besitzt.

Welche Bedeutung einmal die ebenfalls auf Immunitätsreaktionen aufgebaute Kutanreaktionen gewinnen können, läßt sich heute noch nicht übersehen. Ansätze dafür sind auf den verschiedensten Gebieten vorhanden, insbesondere schon bei der oben erwähnten Trematoden-Infektion. Weitere Erfolge hängen offenbar davon ab, daß es gelingt, die Antigene in einer reineren und damit auch spezifischeren Form darzustellen, als uns das heute möglich ist.

Hier stellt also die serologische Forschung den chemischen Laboratorien weitere Aufgaben, deren Lösung Erfolge auf dem Gebiete der Diagnostik der Wurminvasionen erhoffen lassen, ähnlich denen, wie sie die Zusammenarbeit zwischen Biologie und Chemie auf dem Gebiete der Bekämpfung und Therapie der Wurmkrankheiten schon verzeichnen kann.

